

МЕДИЦИНСКОЕ



ОБРАЗОВАНИЕ

Т.В. ПЛЕТЕНЁВА

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ ПРАКТИКУМ



ЭКСМО



**TOI**

...и др.

Ре  
по медицине

В кач

ВАННОВ).  
СТЕГНОВА.



✓  
Т.В. ПЛЕТЕНЁВА

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

## ПРАКТИКУМ

Рекомендовано Учебно-методическим объединением  
по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России  
в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся  
по специальности 060108 (040500) – Фармация

стика

. . . . . 234



УДК 615.9(075)  
ББК 52.84 973  
П 38

**Рецензенты:**

*Берлянд А. С.* — заведующий кафедрой общей и биоорганической химии Московского государственного медико-стоматологического университета, доктор фармацевтических наук, профессор;

*Плаксин В. О.* — заведующий кафедрой судебной медицины Российского государственного медицинского университета, доктор медицинских наук, профессор

**Плетенёва Т. В.**

**П 38** Токсикологическая химия. Практикум / Т. В. Плетенёва. — М. : Эксмо, 2008. — 528 с. — (Медицинское образование).

ISBN 978-5-699-26668-5

Цель предлагаемого учебного пособия — в сжатом виде представить основные разделы токсикологической химии: яды и отравления, введение в наркологию, безопасность лекарственных средств, определение пестицидов и др. Структура каждого раздела максимально облегчает практическое освоение науки о способах определения токсичных веществ и продуктов их метаболизма при анализе биоматериалов и других объектов. В конце книги приводятся ответы на тестовые вопросы для контроля усвоения учебного материала. В Приложении даны действующие нормативные документы.

Книга составлена в соответствии с учебной Программой и рекомендована УМО по медицинскому и фармакологическому образованию в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по специальности «Фармация». Пособие также вызовет интерес у желающих практически освоить раздел судебной медицины, изучающий отравления.

УДК 615.9(075)  
ББК 52.84

© Плетенёва Т. В., 2008  
© ООО «Издательство «Эксмо», 2008

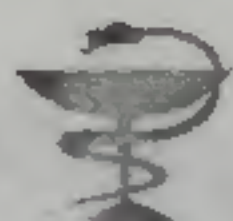


## ОГЛАВЛЕНИЕ

---

Занятие 1. Введение в токсикологическую химию . . . . .	5
Занятие 2. Яды и отравления . . . . .	22
Занятие 3. Основные принципы детоксикационной терапии. Химическая природа антидотов . . . . .	38
Занятие 4. Токсикодинамика. Механизмы формирования токсического эффекта . . . . .	48
Занятие 5. Токсикодинамика. Физико-химические характеристики токсиканта и биологической среды . . . . .	62
Занятие 6. Токсикокинетика . . . . .	72
Занятие 7. Токсико-кинетические характеристики ксенобиотиков. Токсикокинетика насыщения. . . . .	82
Занятие 8. Биотрансформация токсикантов . . . . .	98
Занятие 9. Комбинированная токсичность . . . . .	111
Занятие 10. Методология химико-токсикологического анализа . . . . .	123
Занятие 11. Валидационные характеристики методов анализа . . . . .	145
Занятие 12. Спектральные методы в химико- токсикологическом анализе . . . . .	155
Занятие 13. Атомно-абсорбционная спектрометрия, атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой . . . . .	167
Занятие 14. Применение хроматографических методов в химико-токсикологическом анализе. . . . .	181
Занятие 15. Иммунохимический анализ при химико-токсикологических исследованиях . . . . .	201
Занятие 16. Количественная корреляция. Структура-активность (ККСА) для прогнозирования токсичности лекарственных веществ . . . . .	225
Занятие 17. Введение в наркологию. Химико-токсикологическая характеристика психоактивных веществ . . . . .	234





Занятие 18. Химико-токсикологический анализ при отравлении наркотическими веществами, производными морфина. Опиоиды . . . . .	244
Занятие 19. Химико-токсикологический анализ при отравлении наркотическими веществами, производными каннабиноидов. Кокаин . . . . .	260
Занятие 20. Безопасность лекарственных средств . . . . .	272
Занятие 21. Особенности проведения химико- токсикологического анализа (ХТА) лекарственных средств . . . . .	282
Занятие 22. Химико-токсикологическое определение пестицидов . . . . .	295
Занятие 23. Вещества, изолируемые из биологического материала минерализацией. Металлические яды. . . . .	309
Занятие 24. Летучие яды. 1. Галогенопроизводные углеводородов . . . . .	325
Занятие 25. Летучие яды. 2. Кислородсодержащие органические соединения . . . . .	341
Занятие 26. Токсичные газы. . . . .	363
Занятие 27. Вещества, изолируемые из биологического материала настаиванием исследуемых объектов с водой . . . . .	370
Занятие 28. Яды животного и растительного происхождения. Токсичность грибов . . . . .	376
Занятие 29. Радиотоксикология . . . . .	382
Ответы к тестам и задачам . . . . .	391
Приложения . . . . .	413



# ЗАНЯТИЕ

# 1

## ВВЕДЕНИЕ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКУЮ ХИМИЮ

---

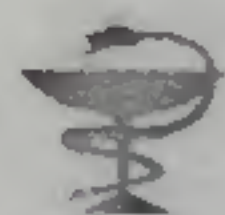
### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторно-практическое занятие «Организация служб аналитической токсикологии. Принципы проведения химико-токсикологического анализа».
- III. Итоговый тест.

### *Целевые задачи*

- изучить задачи токсикологической химии и ее основных разделов;
- охарактеризовать исторические этапы становления токсикологической химии как науки и ее прикладное значение;
- изучить структуры службы аналитической токсикологии (судебно-химическое и клинико-токсикологическое направления);
- ознакомиться с основными документами, регламентирующими деятельность службы аналитической токсикологии (приказы МЗ России; законы РФ: Федеральный закон от 22.06.98 №86-ФЗ «О лекарственных средствах», Федеральный закон от 09.05.05 №45-ФЗ «О наркотических средствах и психотропных веществах»; Международная программа по химической безопасности (ВОЗ),





серия «Гигиенические критерии состояния окружающей среды»;

- изучить принципы отбора, хранения и анализа образцов биоматериалов и вещественных доказательств при химико-токсикологических исследованиях.

### *Краткое теоретическое введение*

Основу токсикологической химии составляют две естественно-научные дисциплины: *токсикология* и *химия*.

*Токсикология* (от греч. *toxikon* — яд и *logos* — учение) — наука, изучающая физические и химические свойства ядов и физических факторов, механизмы их действия на организм человека и разрабатывающая методы диагностики, лечения и профилактики отравлений. Механизмы воздействия химических агентов и физических факторов исследуют на биологических объектах различного иерархического уровня — от молекулярного до организма человека.

*Токсикологическая химия* — наука о молекулярных и физиологических механизмах действия токсичных веществ и продуктов их метаболизма, химических методах их изолирования, идентификации и количественного определения в различных объектах. Объектами анализа могут быть биологические материалы, вода, воздух, продукты питания, лекарства и вещественные доказательства с места отравления.

Токсикологическая химия является разделом судебной медицины, изучающей отравления применительно к задачам судебно-медицинской экспертизы.

*Направления токсикологической химии.* В настоящее время токсикологическая химия имеет несколько направлений: *судебно-химическое, клиническое, наркологическое и экотоксикологическое* (см. приложение 1.1).

*Клинико-токсикологическое* направление токсикологической химии связано с вопросами оказания лечебной помощи при острых и хронических отравлениях.

В связи с широким распространением наркомании особое значение приобрело *наркологическое направление* аналитической токсикологии.





Токсикологическая химия также представлена *судебно-медицинским* направлением.

*Экотоксикологическое* направление токсикологической химии рассматривает вопросы биомедицинской, профессиональной токсикологии, а также токсикологии окружающей среды.

В *биомедицинской области* важны химико-токсикологические исследования побочного действия лекарств и вспомогательных веществ, т.е. оценка безопасности или риска, связанного с их применением.

## **V I. Входной тест**

### **Примеры вопросов входного теста**

Выберите один или несколько правильных ответов

1. *Предварительная оценка риска при отравлениях проводится путем:*

- a) исследования воздействия токсиканта на организм человека;
- b) исследования воздействия токсиканта на лабораторных животных;
- c) анализа соотношения «риск — польза» для химического вещества или физического фактора;
- d) экспертизы химических производств.

2. *По кривым «доза-ответ» эффективность биологического воздействия ксенобиотика на организм оценивается:*

- a) количеством, вызывающим максимальный эффект;
- b) максимально возможным эффектом;
- c) наклоном кривой «доза-ответ».

3. *Токсичность могут проявлять следующие гетерогенные системы (аэрозоли):*

- a) туман;
- b) дым;





- c) порошки;
- d) пар.

4. Судебно-химический анализ проводится при назначении экспертизы:

- a) трупов в случаях насильственной смерти;
- b) потерпевших для оценки степени вреда здоровью;
- c) по материалам уголовных и гражданских дел;
- d) качества оказания медицинской помощи.

5. К понятию «толерантность» имеют отношение:

- a) непреодолимое влечение к приему наркотического вещества или лекарственного средства;
- b) усиление действия при повторном приеме;
- c) снижение действия при повторном приеме;
- d) повышенная чувствительность.

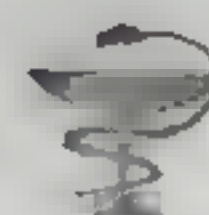
6. Болезнь химической этиологии — это:

- a) кумуляция;
- b) толерантность;
- c) отравление;
- d) биотрансформация ксенобиотика.

7. Организационная структура судебно-медицинского направления аналитической токсикологии в России включает:

- a) Минздравсоцразвития;
- b) ФГУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы»;
- c) Бюро судебно-медицинской экспертизы;
- d) Республиканский центр по лечению острых отравлений;
- e) региональные центры по лечению острых отравлений;
- f) отделения реанимации;
- g) Отдел судебно-медицинской экспертизы трупов;
- h) Отделение геномной дактилоскопии;
- i) наркологический диспансер.





8. Найдите соответствия (например, 5-а или 1-б):

Уровень биологической организации	Метод исследования токсичности
1. Экспериментальные животные	а) микробиологические
2. Клетки	б) токсико(фармако)-эпидемиологические
3. Молекулы (молекулярный уровень)	с) химические
4. Пациенты	д) физиологические
5. Ткани и органы животных и человека	е) биологические
6. Добровольцы	ф) физические

9. Токсикологическая химия — это наука о:

- а) химических превращениях лекарственных веществ (ЛВ) в организме и методах их определения в биоматериалах;
- б) механизмах токсического действия ксенобиотиков и продуктов их биотрансформации в организме, методах их изолирования, обнаружения и количественного определения;
- с) количественном определении чужеродных веществ в биосредах;
- д) биотрансформации ксенобиотиков при химических отравлениях;
- е) взаимодействии ксенобиотиков с молекулярными мишенями организма.

10. Основные разделы токсикологической химии:

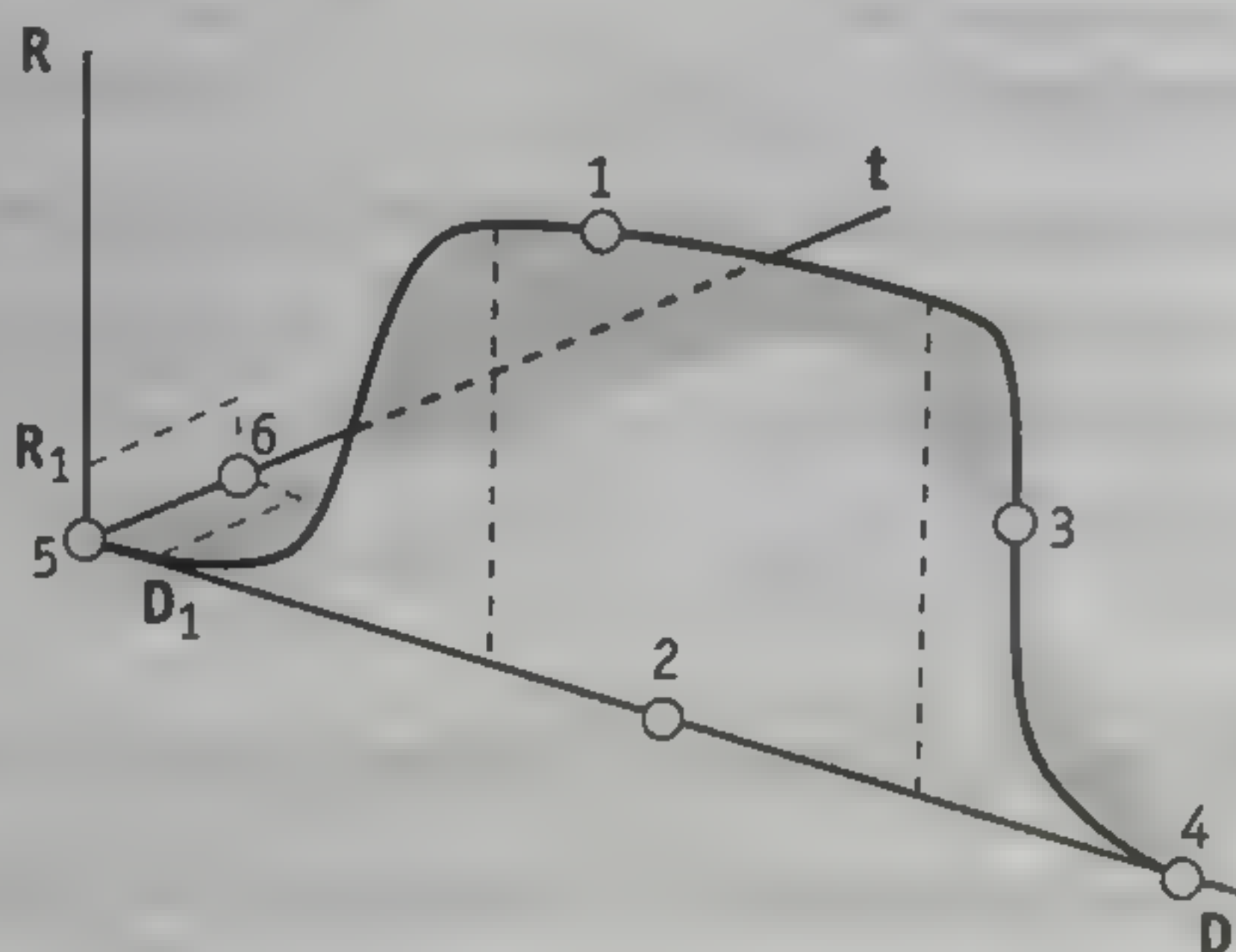
- а) токсикодинамика;
- б) анализ биоматериалов;
- с) биохимическая токсикология;
- д) токсикокинетика;
- е) аналитическая токсикология.

11. Для зависимости «доза-ответ-время» (масса лабораторных животных в зависимости от содержания ионов





цинка в диете) найдите соответствия номера точки и параметра токсичности:



Точка	Параметр токсичности, отвечающий данной точке
1	а) доза соответствует норме
2	б) ответ и доза соответствуют области токсичности
3	с) гибель организма
4	д) ответ и доза соответствуют норме
5	е) ответ и доза соответствуют области дефицита
6	ф) момент времени, при котором наблюдается ответ $R_1$ при дозе токсиканта $D_1$

12. В химико-токсикологическом анализе измельчение био-объекта и изолирование токсических веществ называется:

- а) биотрансформация;
- б) пробоподготовка;
- в) лиофилизация;
- г) гомогенизация;
- д) диспергирование.

13. При химико-токсикологических исследованиях используют следующие объекты:

- а) биожидкости (моча, кровь, ликвор, слюна);
- б) внутренние органы и ткани;
- в) рвотные массы;





- d) остатки лекарственных веществ, напитки и остатки пищи с места происшествия;
- e) волосы и костную ткань.

14. *Какие отделы или лаборатории включены в структуру Бюро судебно-медицинской экспертизы:*

- a) отдел экспертизы потерпевших;
- b) отдел экспертизы трупов;
- c) отдел судебно-гистологических исследований;
- d) судебно-медицинская лаборатория.

15. *Интенсивность действия яда на организм зависит от:*

- a) пути поступления;
- b) химической природы яда;
- c) количества поступившего в организм яда;
- d) скорости элиминации;
- e) физико-химических характеристик биосреды.

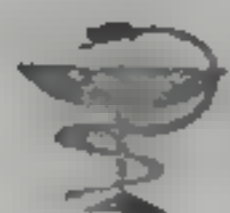
16. *Организационная структура клинико-токсикологического направления токсикологической химии в России включает:*

- a) Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию РФ;
- b) Информационный центр;
- c) Республиканский центр по лечению острых отравлений;
- d) региональные информационные центры;
- e) региональные центры по лечению острых отравлений;
- f) отделения реанимации;
- g) наркологические диспансеры;
- h) химико-токсикологические отделения или лаборатории.

17. *Организационная структура наркологического направления токсикологической химии в России включает:*

- a) Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию РФ;
- b) Центр наркологии;
- c) Республиканский центр по лечению острых отравлений;
- d) региональные наркологические центры;
- e) региональные центры по лечению острых отравлений;





- f) отделения реанимации;
- g) Отдел судебно-медицинской экспертизы трупов;
- h) химико-токсикологические отделения или лаборатории;
- i) наркологический диспансер.

18. Для характеристики терапевтического индекса (TI) может быть использовано следующее утверждение:

- a) низкий TI означает, что  $DL_{50}$  намного превышает  $DE_{50}$ ;
- b) высокий TI означает, что использование химического вещества обычно безопасно;
- c) низкий TI означает, что велика опасность применения химического вещества;
- d) высокий TI означает, что  $DE_{50}$  намного превышает  $DL_{50}$ .

## V II. Лабораторно-практическое занятие «Организация служб аналитической токсикологии. Принципы проведения химико-токсикологического анализа»

Подготовьте ответ по индивидуальной карточке заданий для участия в семинаре, используя вспомогательный материал (см. приложения 1.2–1.4).

### Образцы задач, входящих в карточки индивидуального задания

1. В судебно-химическую лабораторию направлены вещественные доказательства — остатки неизвестного лекарственного вещества и кровь погибшего человека. Какие документы должен запросить химик-эксперт и какие документы он должен оформить при выполнении экспертизы? (См. приложения 1.2 и 1.3.)

2. Химик-эксперт столкнулся с тем, что кусочки печени, присланные для судебно-химического анализа, законсерви-

рованы  
консерв

3. В  
ное отр  
токсик  
ниями

4. Д  
ческого  
мышья  
волосы  
для ана

5. П  
мик-экс  
предста  
В каком

6. Ср  
выражен  
предста  
в мг/кг  
заны ток

№ п/п
1
2
3
4
5
6
7
8
9



рованы в формалине. Правильно ли это? Какие требования к консервированию биоматериалов известны?

3. Врач «Скорой помощи» диагностировал острое опиатное отравление у молодой женщины. Какое направление токсикологической службы занимается острыми отравлениями и какова его структура?

4. Для проведения направленного химико-токсикологического анализа при хроническом отравлении соединениями мышьяка в судебно-химическую лабораторию направлены волосы трупа. Какие еще биообъекты следует представить для анализа?

5. При производстве судебно-химического анализа химик-эксперт израсходовал все количество биоматериала, представленного в лабораторию. Имел ли он на это право? В каком документе можно найти ответ на этот вопрос?

6. Сравните среднесмертельные дозы токсикантов X и Y, выраженные в разных единицах измерения (табл. 1.1), и представьте результаты в виде соотношений  $DL_{50}(X)/DL_{50}(Y)$  в мг/кг и ммоль/кг (в карточке индивидуального задания указаны токсиканты X и Y под соответствующими номерами).

Таблица 1.1

№ п/п	Токсический агент	$DL_{50}$ , мг/кг	$DL_{50}$ , ммоль/кг
1	Этанол	10 000	200
2	Натрия хлорид	4000	70
3	Железа (II) сульфат	1500	10
4	Морфина сульфат	900	2
5	Натрия фенобарбитал	150	0,7
6	Стрихнина сульфат	2	0,006
7	Никотин	1	0,006
8	D-тубокураринхлорид	0,5	0,0007
9	Диоксин (TCDD)	0,001	0,000003





Ответ представьте в виде таблицы, например:

$N_x/N_y$	$DL_{50}(X)/DL_{50}(Y)$ , мг/кг	$DL_{50}(X)/DL_{50}(Y)$ , ммоль/кг
2/3		
5/6		
4/2		

Соотношение токсичностей в мг/кг по сравнению с единицами СИ (ммоль/кг) преимущественно:

1) больше	3) одинаково
2) меньше	4) нет однозначного ответа

7. Какая доза называется среднесмертельной? Дайте ее полную характеристику, включая оценку токсичности.

## V III. Итоговый тест

### Образец варианта итогового теста

1. Первичный поиск неизвестного ксенобиотика в биоматериалах называется:

a) мониторингом;	c) биотрансформацией;
b) изолированием;	d) скринингом.

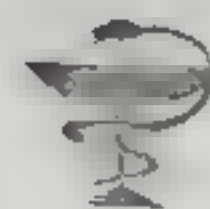
2. Для повторных судебно-химических экспертиз (СХЭ) в архиве должна оставаться часть полученного для анализа биоматериала не менее:

a) 1/3;	c) 1/2;
b) 1/5;	d) 1/4.

3. Комплекс внутренних органов для исследования включает:

- a) желудок с содержимым, 1 м тонкой кишки из наиболее измененных отделов, 1/3 печени, одну почку, всю мочу, не менее 200 мл крови;





- b) 1/3 печени, одну почку, всю мочу, не менее 200 мл крови, одно легкое;
- c) 1 м тонкой кишки из наиболее измененных отделов, 1/3 печени;
- d) желудок с содержимым, 1 м тонкой кишки, ткани головного мозга;
- e) не менее 200 мл крови;
- f) печень, головной мозг, все биожидкости.

4. Для консервирования органов разрешено применять:

a) формальдегид;	d) этанол;
b) бензол;	e) муравьиную кислоту;
c) изобутиловый спирт;	f) эфир.

5. Биообъекты, не возвращаемые органам суда и следствия, хранят в судебно-химических отделениях в течение:

- a) 5 лет;
- b) 10 лет;
- c) 2 лет;
- d) 6 месяцев;
- e) одного года.

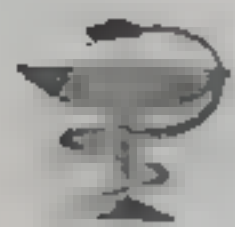
6. Правовые основы государственной политики в сфере оборота наркотических средств и психотропных веществ регламентирует:

- a) Федеральный закон «О наркотических средствах и психотропных веществах»;
- b) Гражданский кодекс;
- c) Федеральный закон «О лекарственных средствах»;
- d) Уголовный кодекс;
- e) трудовое законодательство.

7. Направлениями токсикологической химии являются:

- a) наркологическая служба;
- b) судебно-химическая экспертиза;
- c) диагностика и коррекция лечения острых отравлений;
- d) клиническая фармакология;
- e) экологическое направление.





8. Производство химико-токсикологического анализа (ХТА) регламентируется документами:

- a) Федеральным законом «О наркотических средствах и психотропных веществах»;
- b) Гражданским кодексом;
- c) приказами МЗ РФ (№ 166, 40 и др.);
- d) Федеральным законом «О лекарственных средствах»;
- e) Уголовным кодексом;
- f) стандартами ВОЗ.

9. В задачи СХЭ входит:

- a) качественное и количественное определение токсикологически важных веществ для установления причины смерти;
- b) идентификация метаболитов в крови;
- c) оформление документации и отчетов о проведении ХТА;
- d) проведение экспресс-анализов при отравлениях наркотическими веществами;
- e) проведение полного комплекса детоксикации организма.

10. В сопроводительном документе — направлении на СХЭ должны быть указаны:

- a) природа предполагаемого яда;
- b) пути поступления яда в организм;
- c) распределение яда в организме;
- d) путь и скорость выведения яда из организма;
- e) длительность течения интоксикации;
- f) возраст пострадавшего.

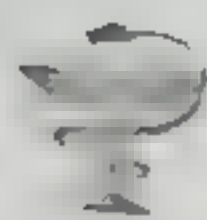
11. Органы для исследования нельзя помещать в:

- a) металлическую посуду;
- b) керамическую посуду;
- c) стеклянную посуду;
- d) тефлоновую посуду.

12. Объекты исследования можно консервировать только при подозрении на отравление:

- a) опиатами;
- b) летучими ядами;





- c) трициклическими антидепрессантами;
- d) алкалоидами;
- e) фосфорорганическими пестицидами;
- f) фенотиазинами;
- g) сердечными гликозидами.

13. При производстве СХЭ химик-эксперт оформляет следующие документы:

- a) рабочий журнал;
- b) акт судебно-химического исследования;
- c) заключение эксперта;
- d) письменное направление судмедэксперта;
- e) направление врача медицинского учреждения;
- f) копию карты стационарного больного;
- g) акт изъятия объектов.

14. Для обнаружения и идентификации химических и лекарственных веществ при производстве ХТА используют:

- a) микробиологические методы;
- b) математические модели и прогнозирование (метрологические характеристики, топологические индексы);
- c) предварительные методы (цветные реакции, ТСХ, ИФА);
- d) пробоподготовку (гомогенизация, лиофилизация, минерализация);
- e) подтверждающие инструментальные методы (ИК-, УФ-, видимая спектрофотометрия, ВЭЖХ, ГЖХ).

15. Токсикологическая химия — это наука о:

- a) фармакокинетических закономерностях лекарственных веществ;
- b) механизмах взаимодействия ксенобиотиков с биорецепторами;
- c) качественном и количественном определении эндотоксикантов;
- d) химическом превращении чужеродных веществ в организме;
- e) методах изолирования токсических веществ, их обнаружения и количественного определения;
- f) химических реакциях в биосредах при отравлениях.





## 16. Найдите соответствия:

Биообъект для исследования	Требуемый документ — направление на проведение СХЭ
1. Внутренние органы и ткани	a) акт судебно-химического исследования b) заключение эксперта
2. Биожидкости, выделения человека и смывы с поверхности кожи	c) выписка из акта судебно-химического исследования трупа d) письменное направление судмедэксперта e) направление врача медицинского учреждения f) копия карты стационарного больного g) акт изъятия объектов

## 17. Найдите соответствия:

Направление СХА	Применяемые схемы изолирования и методики качественного и количественного определения ядов
1. Направленный анализ	a) одна частная методика
2. Ненаправленный анализ	b) две независимые частные методики c) скрининг-анализ

## 18. Найдите соответствия:

Предполагаемое отравление	Дополнительные органы с учетом направленности анализа для СХЭ
1. Ингаляционное отравление	a) сальник и 1/3 головного мозга
2. Подкожное или внутримышечное введение яда	b) 1/3 головного мозга, 1/4 легкого
3. Отравление кислотами и щелочами	c) участок кожи и мышцы из области предполагаемого введения яда
4. Отравление этанолом	d) глотка, трахея, пищевод, участок кожи со следами действия яда
5. Отравление летучими хлорорганическими веществами	e) волосы, ногти, плоские кости
6. Отравление соединениями мышьяка	f) кровь и моча

Вопрос

1. П...
2. П...
3. К...
4. К...
- эксперт
5. К...
- эксперт
- верхнос
6. К...
- эксперт
- людей?
7. К...
- щество
8. К...
- ных экс
9. К...
- ственно
10. К...
- сте с об
- пать к
11. ...
- эксперт
12. ...
- го отде
13. ...
- ния»? (
14. ...
- ных до
- пертиз
15. ...
- но-хим
- пов и ж
16. ...
- ств и д
17. ...
- на эксп
18. ...

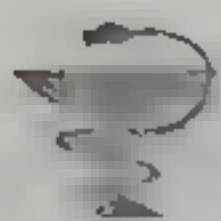




## Вопросы для обсуждения на семинаре

1. Предмет, цели и задачи токсикологической химии, содержание разделов токсикологической химии.
2. История формирования токсикологической химии.
3. Каковы цель и задачи судебно-химической экспертизы?
4. Каковы основания для проведения судебно-химической экспертизы вещественных доказательств?
5. Каковы основания для проведения судебно-химической экспертизы биожидкостей, выделений человека, смывов с поверхности кожи?
6. Каковы основания для проведения судебно-химической экспертизы внутренних органов, тканей, биожидкостей трупов людей?
7. Какие документы должны быть представлены вместе с вещественными доказательствами?
8. Какие документы должны быть представлены при повторных экспертизах?
9. Какие документы должны быть представлены вместе с вещественными доказательствами из наркологических диспансеров?
10. Если необходимые документы не были представлены вместе с объектами для экспертизы, имеет ли право эксперт приступать к исследованию?
11. Какие специалисты могут быть допущены к проведению экспертизы?
12. Каковы обязанности судмедэксперта судебно-химического отделения?
13. Какова структура «Акта судебно-химического исследования»? (См. приложение 1.4.)
14. Какое количество биоматериалов или иных вещественных доказательств принимается для судебно-химической экспертизы?
15. Какие требования существуют при направлении на судебно-химическую экспертизу объектов из инфицированных трупов и живых лиц с инфекционными заболеваниями?
16. Как проводится регистрация вещественных доказательств и документов в судебно-химическом отделении?
17. Как обеспечивается сохранность объектов, поступивших на экспертизу?
18. Как долго хранятся объекты после окончания экспертизы?





19. Каковы особенности хранения объектов при испытаниях только на этанол?

20. Что хранится в архиве судебно-химического отделения после окончания экспертизы?

21. Когда необходимо приступить к экспертизе?

22. Какое количество вещественных доказательств должно быть использовано?

23. Могут ли вещественные доказательства быть использованы полностью?

24. Какова методология судебно-химического анализа (выбор метода, предварительные испытания, подтверждающие методы)?

25. Когда используют метод внутреннего стандарта?

26. Направленный и ненаправленный анализ — что это такое?

27. Может ли эксперт использовать любую методику?

28. Что такое скрининг-анализ и подтверждающие методы?

29. Что такое стандарт подлинности вещества?

30. Что такое метод добавок?

31. Почему судебно-химическое исследование обязательно проводится как количественное исследование?

32. Почему необходимо методику апробировать на той же биологической матрице, что и вещественные доказательства?

33. Сколько определений необходимо провести при анализе?

34. Что такое внутрилабораторный контроль и внешний контроль качества анализа?

35. Документация при проведении судебно-химических экспертиз.

36. В чем различие «Акта судебно-химического исследования» и заключения эксперта?

37. Кто назначает судебно-химическую экспертизу? Имеют ли на это право врачи медицинских учреждений?

38. Перечислите документы, направляемые вместе с вещественными доказательствами.

39. Перечислите объекты, направляемые для судебно-химического исследования.

40. Какие биообъекты должны быть изъяты при подозрении на отравление ядовитыми веществами?

41. Как хранятся изъятые органы и ткани?

42. Какие органы и ткани изымаются дополнительно из трупа при: подкожном/внутримышечном отравлении; ингаляционном отравлении; отравлении кислотами и едкими щелочами, ле-



тучими хлорорганическими веществами, метанолом, гликозидами, фосфорорганическими пестицидами; солями ртути, свинца, таллия, мышьяка; тетраэтилсвинцом, оксидом углерода (II), метгемоглобинообразующими ядами, грибами и ядовитыми растениями?

43. Какие консерванты могут использоваться для хранения органов и тканей, направляемых на судебно-химическое исследование?

44. Какие яды можно консервировать в этаноле?

45. Как долго может храниться биоматериал при подозрении на отравление этанолом?

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 11–24, 167–171.



## ЗАНЯТИЕ 2

### ЯДЫ И ОТРАВЛЕНИЯ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторно-практическое занятие «Расчет токсикометрических параметров ксенобиотиков».
- III. Итоговый тест.

#### *Целевые задачи*

- изучить классификации ядов по степени токсичности и вызываемым эффектам в организме;
- освоить токсикометрические показатели ксенобиотиков;
- изучить известные классификации отравлений.

#### *Краткое теоретическое введение*

В токсикологической химии используются специфические термины, которые частично рассмотрены в учебнике «Токсикологическая химия», 2006, с. 24–25. В первую очередь следует обратить внимание на определения таких специфических терминов, как *яд*, *ксенобиотик*, *токсикант*, *токсин*, *токсичность*, *степень токсичности*, *токсическая доза*, *способы выражения токсической дозы*.

По данным токсикологических центров разных стран, спектр острых отравлений примерно одинаковый. В крупных мегаполисах примерно 70% отравлений приходится на острые отравления лекарствами и препаратами бытовой хи-





мни. Летальность при тяжелых формах ятрогенных отравлений составляет около 15%. В развитых странах преобладают отравления психотропными средствами, нестероидными противовоспалительными средствами и препаратами бытовой химии (прежде всего органическими растворителями, пестицидами). В странах Африки и Латинской Америки часто происходят отравления химическими веществами, применяемыми в сельском хозяйстве. По последствиям наиболее опасны отравления антидепрессантами, анальгетиками, седативно-гипнотическими и сердечно-сосудистыми средствами, средствами для лечения бронхиальной астмы, а также уличными наркотиками, спиртами, токсичными дымами и газами, химическими реагентами.

На практике используют различные классификации токсикантов. Согласно *гигиенической классификации* токсичные вещества делят на *чрезвычайно токсичные, высокотоксичные, умеренно токсичные и малотоксичные*.

Химическая классификация предполагает деление токсикантов в соответствии с их химическими классами — на *органические, неорганические и элементарноорганические*.

В токсикологической химии и судебно-химическом анализе яды классифицируют *по способам изолирования (выделения) из биологического материала и из других объектов*.

1. Вещества, *изолируемые из биологического материала методом перегонки с водяным паром*. К этой группе в первую очередь относятся *летучие яды*: циановодород, низшие спирты, альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, фенол, галогенопроизводные алифатических углеводородов, летучие органические растворители и другие соединения.

2. Вещества, *изолируемые из биологического материала настаиванием его с подкисленной водой или с подкисленным этиловым спиртом*. К ним относятся: алкалоиды, их синтетические аналоги, барбитураты и другие токсичные природные и синтетические органические соединения.

3. Вещества, *изолируемые из биологического материала настаиванием его с водой (без подкисления или подщелачивания)*. Таким путем из биологического материала изолируют





ют минеральные кислоты, едкие щелочи и соли некоторых минеральных кислот.

4. Вещества, *изолируемые из биологического материала настаиванием его с органическими растворителями, не смешивающимися с водой*. Так в основном изолируют ядохимикаты и другие органические соединения, обладающие липофильными и одновременно амфотерными свойствами.

5. Вещества, *для изолирования которых применяют методы минерализации биологического материала (окисление органической матрицы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ )*. В эту группу токсичных веществ входят *металлические яды* (элементные формы и соединения d-, p- и s-элементов).

6. Вещества, которые определяют непосредственно в биологическом материале *без предварительного изолирования*. К ним относятся угарный газ — оксид углерода (II), и соединения фтора.

Для определения степени токсичности химических веществ и спектра эффектов, вызываемых ими в организме, используют кривые «доза-ответ». Независимо от природы «ответа» степень воздействия токсиканта на организм в зависимости от его дозы имеет общий характер и рассматривается как фундаментальная характеристика.

Существует два типа зависимостей «доза-ответ»: 1) для индивидуального организма и 2) для групп организмов (популяции). Например, зависимость «доза-ответ» для отдельного организма может отражать различия в активности ферментов в мозге крыс при включении в диету фосфорорганического инсектицида (рис. 2.1).

Как видно из рис. 2.1, токсический эффект прежде всего связан с ингибированием холинэстеразы, а не карбоксилэстеразы. Следует обратить внимание, что графики отличаются тем, что абсцисса представлена в арифметических (слева) и логарифмических (справа) координатах.

При исследованиях в группах зависимость «доза-ответ» не изменяется по сути, но в этом случае отдельные особи исследуемой группы (популяции) классифицируются как «дающие ответ» и «не дающие ответ» на токсическое воздействие. Статистически установленное при этом значение



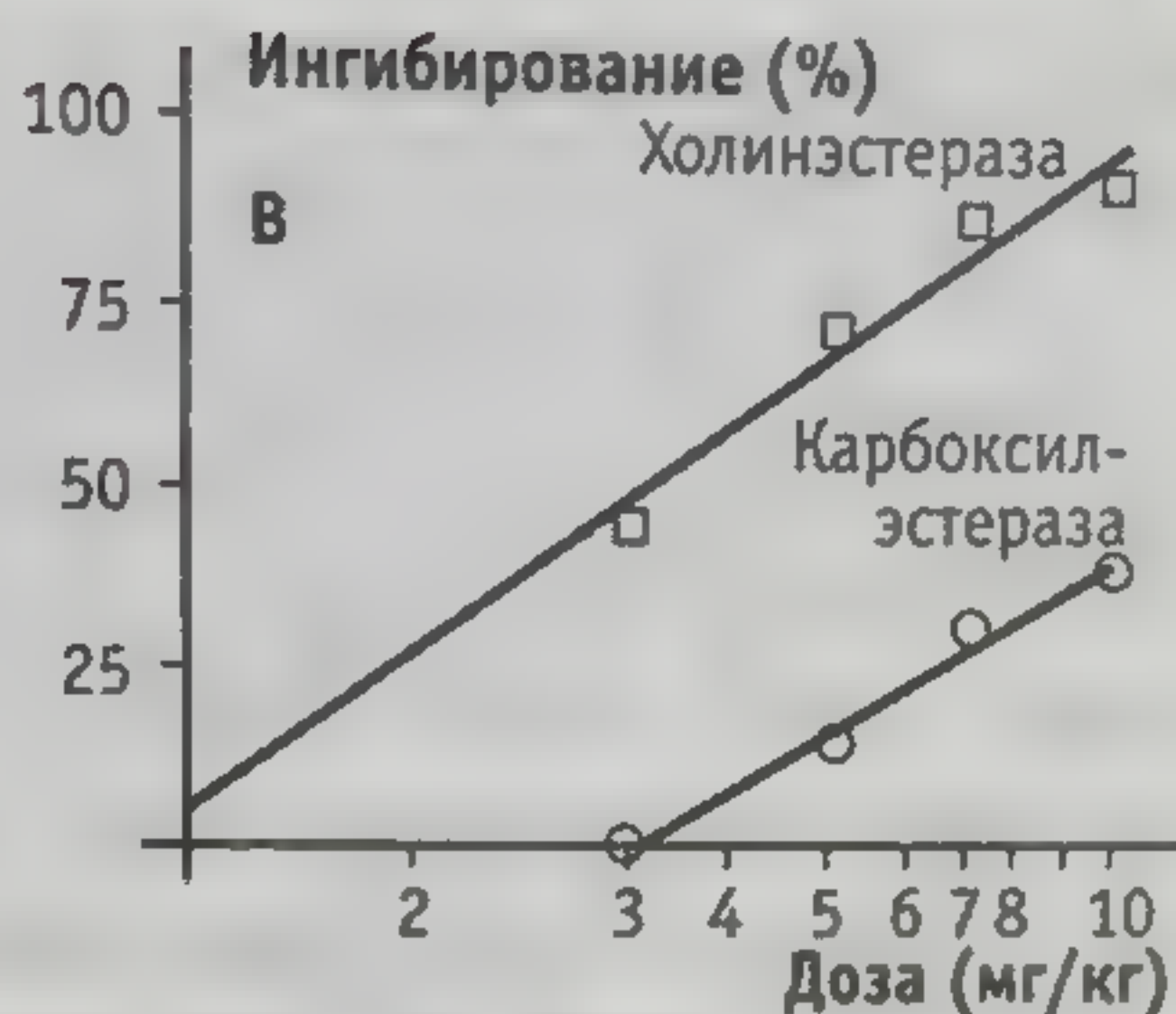
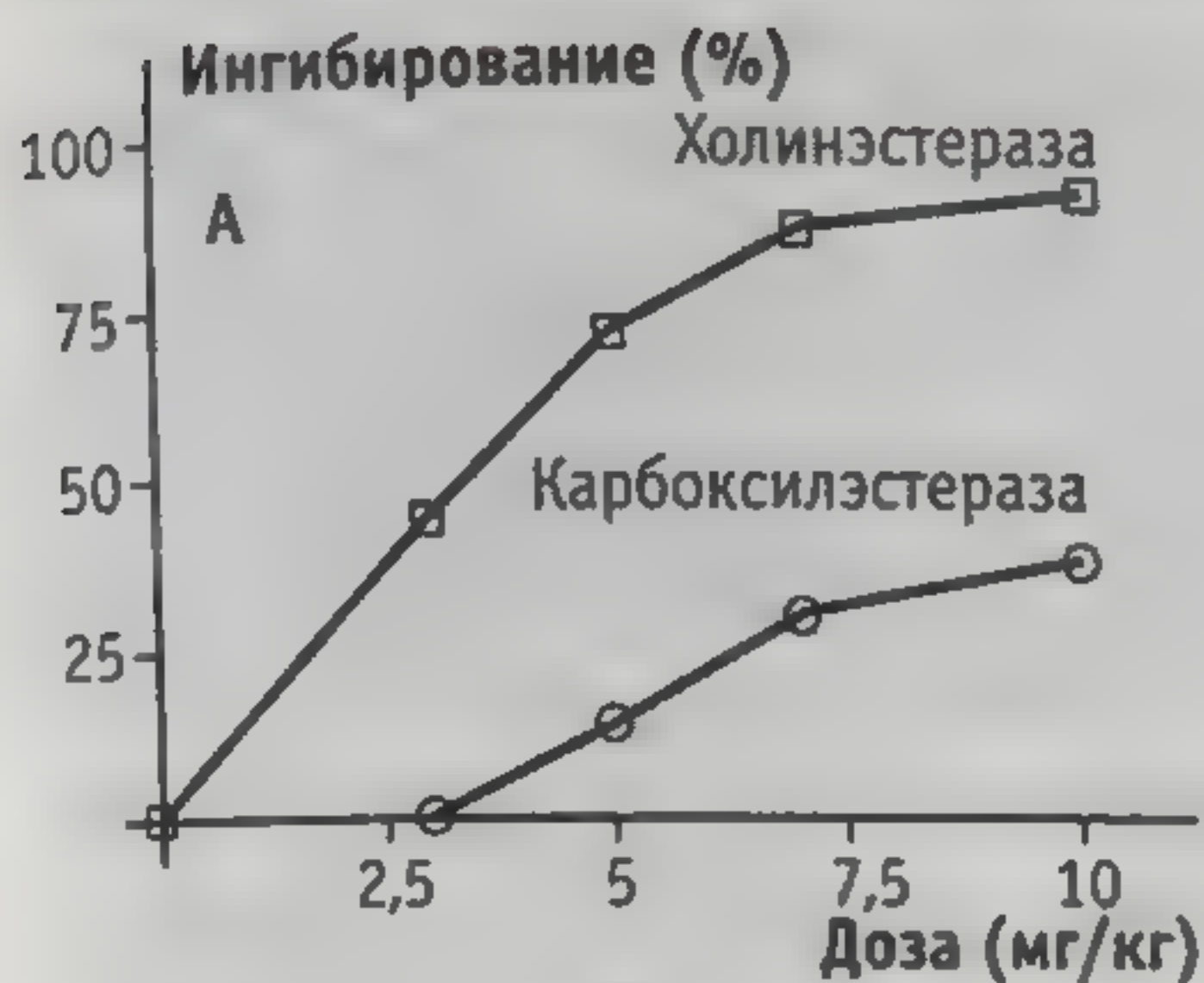


Рис. 2.1. Зависимость ответа (ингибирование эстераз в мозге крыс) от дозы фосфорорганического инсектицида в пище (Toxicol. Sci. 52: 92–100, 1999)

$DL_{50}$  соответствует ожидаемой гибели 50% животных в исследуемой группе. Тогда частота гибели животных в зависимости от дозы представляет собой дифференциальную кривую  $dR/d \lg D - \lg D$  и соответствует интегральной кривой в координатах  $R - \lg D$  (рис. 2.2).

Каждая точка дифференциальной кривой отражает долю животных, которые погибали при данной дозе, минус число животных, погибающих при бесконечно близкой предыдущей дозе. Аналогично при конечных изменениях функции

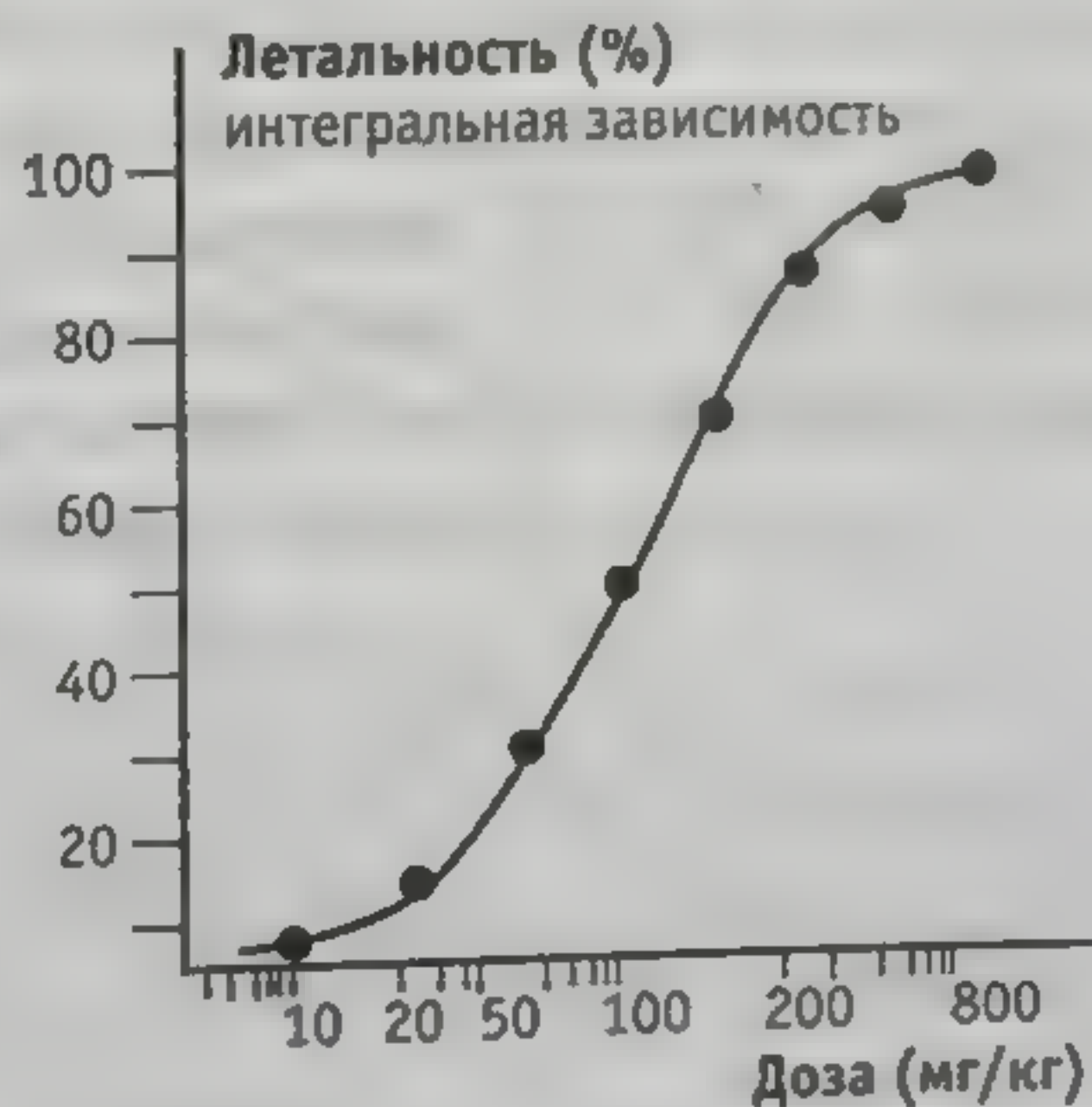
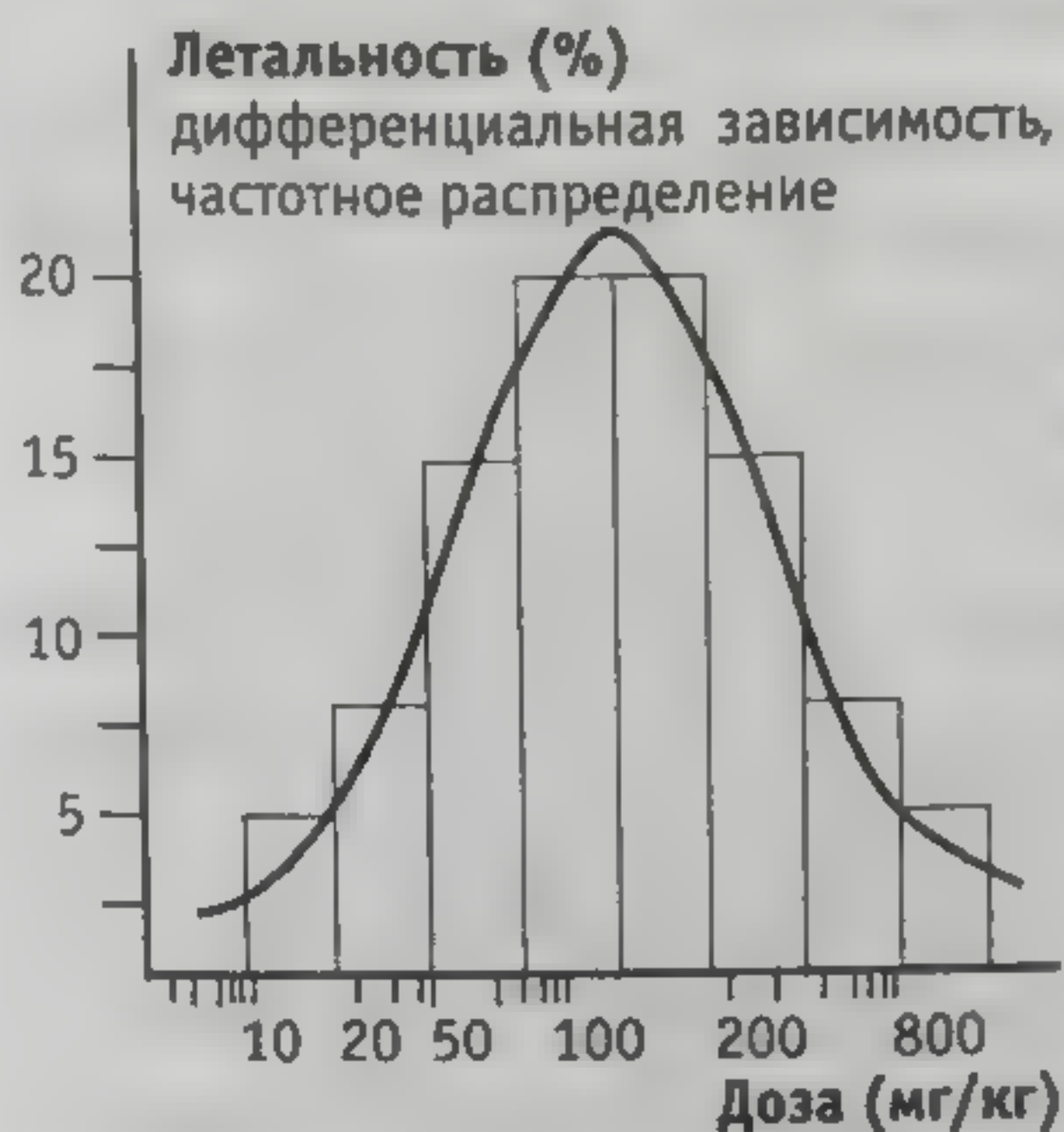


Рис. 2.2. Зависимость доли погибших животных в исследуемых группах от дозы токсического вещества в дифференциальной (общее число погибших) форме



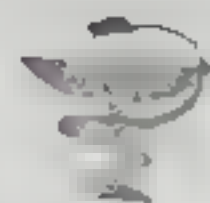


(ответ  $\Delta R$ ) и аргумента (доза  $\Delta D$ ) образуется набор столбцов, высота которых соответствует частоте гибели животных в интервале доз  $\Delta D$  или  $\Delta \lg D$ . Из графиков видно, что в области низких и высоких доз гибнет только небольшое число животных (это гипер- и гипочувствительные особи). Теоретически сигмоида никогда не достигает 0 и 100%, т.е. даже при очень низких дозах отдельные, особо чувствительные к воздействию токсиканта особи должны погибнуть, так же как при очень высоких дозах могут быть обнаружены негибнущие гиперустойчивые индивидуумы. Минимальная доза, вызывающая тот или иной эффект, называется пороговой дозой.

Значительно большее число животных погибает в области промежуточных значений доз, причем максимальное число погибших животных приходится на середину исследуемого интервала доз. Таким образом, рассмотренная колоколообразная дифференциальная кривая «доза-ответ» представляет собой нормальное распределение частоты ответа (гибели) на токсическое воздействие химического вещества (или физического фактора).

Сигмоида (S-образная кривая), расположенная в правой части рис. 2.2, характеризуется относительной линейностью в области между 16 и 84%. Значения ответов в этой области укладываются в пределах одного стандартного отклонения ( $S$ ,  $\sigma$  или  $SD$ ) для группы/популяции и соответствуют нормальному гауссовому распределению. При нормальном распределении значениям  $R \pm 1SD$  соответствуют 68,3%,  $R \pm 2SD$  — 95,5%,  $R \pm 3SD$  — 99,7% животных в исследуемой группе. Таким образом, ответ на воздействие токсиканта можно выразить через стандартное отклонение ( $SD$ ) экспериментального значения ответа  $R$  или нормальное эквивалентное отклонение  $NEDs$  (normal equivalent deviations). Тогда при  $R = 50\%$   $NED$  равно 0. Значения  $NED = +1$  при 84% и  $NED = -1$  при 16% ответа  $R$ . Во избежание отрицательных значений  $NED$  могут быть увеличены на 5 и называются при этом *пробитными единицами*, или *пробитами*. При таком преобразовании 50%-ный ответ соответствует пробиту 5, а  $NED = +1$  становится равным 6 пробитам, тогда как  $NED = -1$  соответствует 4 пробитам. На графике изображены зависимости «доза-ответ» в пробитных





единицах в эксперименте при определении доз: эффективной (DE), например при анестезии, токсичной (DT), например при повреждении печени, и летальной (DL). Из рисунка 2.3 видно, что наклоны прямых различны. Чем больше угол наклона прямой, тем более резкое изменение ответа наблюдается при небольшом изменении дозы (сравните прямые DT и DL).

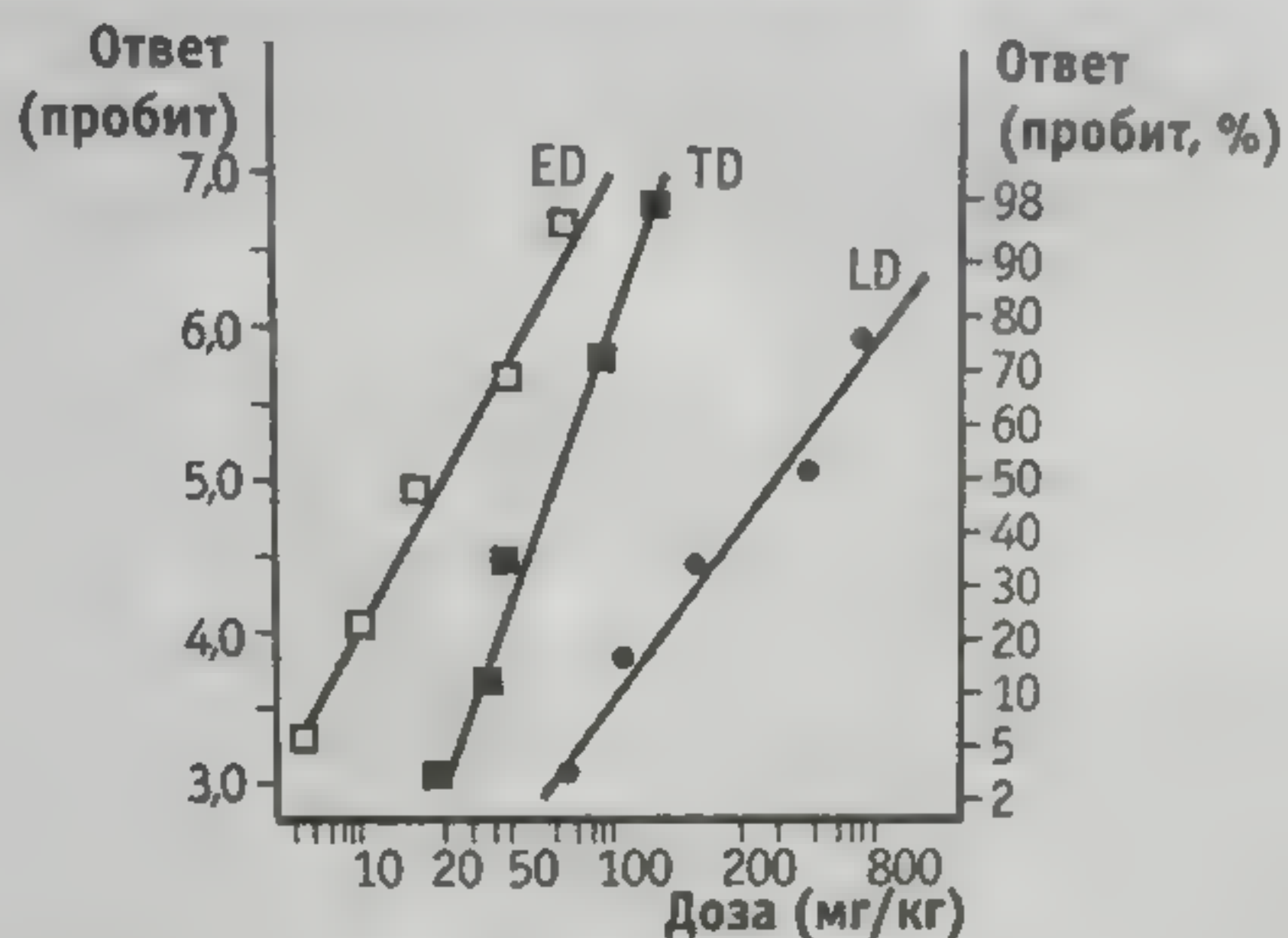


Рис. 2.3. Зависимость ответа в пробитных единицах от дозы токсиканта

Оценка токсичности новых химических веществ, в том числе «будущих» лекарственных средств, проводится на мышах, крысах, иногда на кроликах и собаках при разных способах введения токсиканта. При введении вещества внутрь оценивается острая летальность (подсчет погибших животных в течение 14 сут). При оценке ингаляционной токсичности животное помещается в камеру, воздух которой содержит токсичное вещество в виде газа или аэрозоля. При этом определяют  $CL_{50}$ -концентрацию, при которой гибнет половина животных в группе за период наблюдения, как правило, в течение 4 ч. Острую кожную токсичность определяют на кроликах: место аппликации, предварительно выбритое, покрывают токсикантом на 24 ч. Затем кожу очищают и ведут наблюдения в течение 14 сут, рассчитывая значения  $DL_{50}$ . *Субхроническая токсичность* исследуется в течение 90 дней и заключается в определении наименьшего уровня токсиканта, приводящего к появлению нарушений в организме





(LOAEL — lowest observed adverse effect level). Хроническая токсичность исследуется в течение 6–24 мес. и заключается в определении максимально переносимой дозы (MTD — maximum tolerable dose), которая приводит к подавлению увеличения массы тела в течение 90 сут.

Известны разные подходы к характеристике и классификации отравлений. Этиопатогенетическая классификация группирует отравления по причине их возникновения (случайные, преднамеренные — криминальные и суицидальные, боевые, полицейские).

Отравления, вызванные поступлением яда из окружающей среды, носят название экзогенные в отличие от эндогенных интоксикаций токсичными метаболитами.

Клинический подход к классификации отравлений связан с проблемами клинического течения отравления, тяжести заболевания, характера осложнений. При этом отравления рассматривают как «химическую травму», развивающуюся вследствие попадания в организм токсической дозы чужеродного химического вещества (ксенобиотика). Различают несколько периодов отравления:

— *скрытый* характеризуется отсутствием симптомов отравления;

— *токсикогенный* начинается с первыми клиническими симптомами и завершается после окончательной элиминации яда из организма;

— *соматогенный* (греч. *soma* — тело) сопровождается органными и полиорганными повреждениями уже после элиминации яда;

— *восстановительный* может продолжаться в течение нескольких лет с возможным сохранением остаточных признаков повреждения нервной, эндокринной и иммунной систем.

По клинической картине отравления бывают острые, подострые и хронические.

Острые отравления возникают при однократном (иногда повторном) поступлении в организм токсических доз яда проявляются выраженными специфическими симптомами, развивающимися в течение ограниченного периода времени (как правило, до 24 ч).

Подострым  
рывном  
низм токс  
ся замедл

Хроническое  
(иногда в  
субтоксич  
симптомо  
систем ор

Диагностика  
— метабол  
ных анам  
изучения  
специфич

— резистент  
стики, ка  
ских вещ

— патолог  
цифическ

Для диагно  
гистологи  
ческие, фи

При выявл  
цифическ  
зрения, и  
запах ил  
цировать

V I. Вх

Пример

Выбер

1. Най

а) биот

б) токс

с) лека



*Подострые отравления* отличаются тем, что при непрерывном или прерываемом во времени поступлении в организм токсических доз яда симптомы отравления проявляются замедленно (обычно до 90 сут).

*Хронические отравления* развиваются при длительном (иногда в течение нескольких лет) поступлении ядов в малых субтоксических дозах; проявляются в виде неспецифических симптомов, отражающих нарушение функций отдельных систем организма (нервной, эндокринной и др.).

*Диагностика острых экзогенных отравлений* включает:

— методы клинической диагностики, основанные на данных анамнеза, результатах осмотра места происшествия и изучения клинической картины заболевания для выявления специфических симптомов отравления;

— результаты лабораторной токсикологической диагностики, качественное и количественное определение токсических веществ в биологических средах организма;

— патоморфологическую диагностику, обнаружение специфических посмертных признаков отравления.

Для диагностики отравления применяют *клинические, гистологические, биохимические, иммунохимические, химические, физико-химические и физические методы*.

При воздействии яда на организм могут проявляться специфические клинические симптомы — нарушение слуха или зрения, изменение окраски мочи, рвотных масс, восприятия запаха или вкуса и др. Эти показатели помогают идентифицировать яд.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. *Найдите синонимы к термину «яд»:*

- а) биотик;
- б) токсическое вещество;
- с) лекарственное вещество;





- d) ксенобиотик;
- e) пробиотик;
- f) токсин.

2. Стадии острого отравления:

- a) хроническая;
- b) суицидальная;
- c) острая;
- d) соматогенная;
- e) токсическая;
- f) абсорбционная;
- g) адсорбционная;
- h) токсикогенная.

3. Найдите соответствия:

Класс токсиканта	Токсикант
1. Экзотоксиканты	a) индол
2. Эндотоксиканты	b) «кетоновые тела»
	c) сероводород
	d) анилин
	e) CO <sub>2</sub>
	f) диоксин
	g) активные формы кислорода

4. Судебная классификация отравлений включает следующие типы:

- a) случайные;
- b) трансдермальные;
- c) экзогенные;
- d) хронические;
- e) преднамеренные;
- f) ингаляционные;
- g) пероральные.

5. Клинико-токсикологическая классификация отравлений включает следующие типы:

- a) случайные;
- b) трансдермальные;





- с) экзогенные;
- d) хронические;
- e) преднамеренные;
- f) ингаляционные;
- g) пероральные.

6. В качестве ответа на кривых «доза-ответ» могут быть использованы:

- a) активность ферментов;
- b) только летальность;
- c) масса тела;
- d) любой физиологический показатель.

7. Кривые «доза-ответ» могут быть представлены в координатах:

- a)  $dR/d \lg D - \lg D$ ;
- b)  $R - \lg D$ ;
- c)  $R - D$ ;
- d) пробит-доза;
- e)  $SD - \lg D$ .

## V II. Лабораторно-практическое занятие «Расчет токсикометрических параметров ксенобиотиков»

Подготовьте ответ по индивидуальной карточке заданий для участия в семинаре, используя вспомогательный материал

**Образцы вопросов и задач, входящих в карточки индивидуального задания**

1. Определение понятий «яд» и «токсичность». Классификация ядов, используемая в ХТА (приведите примеры).
2. Гигиеническая классификация ядов (по степени токсичности).
3. Понятие «отравление», характеристика и классификации.





4. Проблема отравлений в развитых странах. Ятрогенные, бытовые и производственные отравления.

5. Заполните таблицу, воспользовавшись дополнительными материалами к занятию (см. приложение 2.1).

Класс токсичности яда	Характеристика класса: DL <sub>50</sub> , мг/кг	Пример яда и его характеристика	
		яд	DL <sub>50</sub> выбранного яда, мг/кг
1. Чрезвычайно токсичные	< 15		
2. Высокотоксичные	15–150		
3. Умеренно токсичные	151–1500		
4. Малотоксичные	> 1500		

6. Типы кривых «доза-ответ».

7. Рассчитайте минимальную летальную дозу в мг и охарактеризуйте токсичность кодеина (DL<sub>min</sub> = 15 мг/кг), эуфилина (DL<sub>min</sub> = 8,4 мг/кг), тиоридазина (DL<sub>min</sub> = 15 мг/кг), димедрола (DL<sub>min</sub> = 25 мг/кг) для детей массой тела 25 и 32 кг.

8. Представьте в общем виде диаграмму «доза-ответ» (ответ — изменение массы экспериментального животного при дефиците, норме и избытке необходимого микроэлемента) и укажите на ней точки, соответствующие гибели животного.

9. Представьте в общем виде диаграмму «доза-ответ» (ответ — гибель экспериментального животного) при дефицитной, нормальной и избыточной по необходимому микроэлементу диете и укажите на ней область, соответствующую 100%-ной выживаемости животного.

10. Представьте в общем виде токсико-кинетическую кривую пребывания яда в организме. Укажите на ней периоды отравления; охарактеризуйте каждый из этих периодов.

11. По данным таблицы 2.1 постройте:

- 1) кривую «доза-ответ» в координатах D–R;
- 2) S-образную интегральную кривую «доза-ответ» в координатах lgD–R;

3) дифференциальную кривую  $dR/d(\lg D)$  —  $\lg D$ , отражающую частоту гибели групп животных:

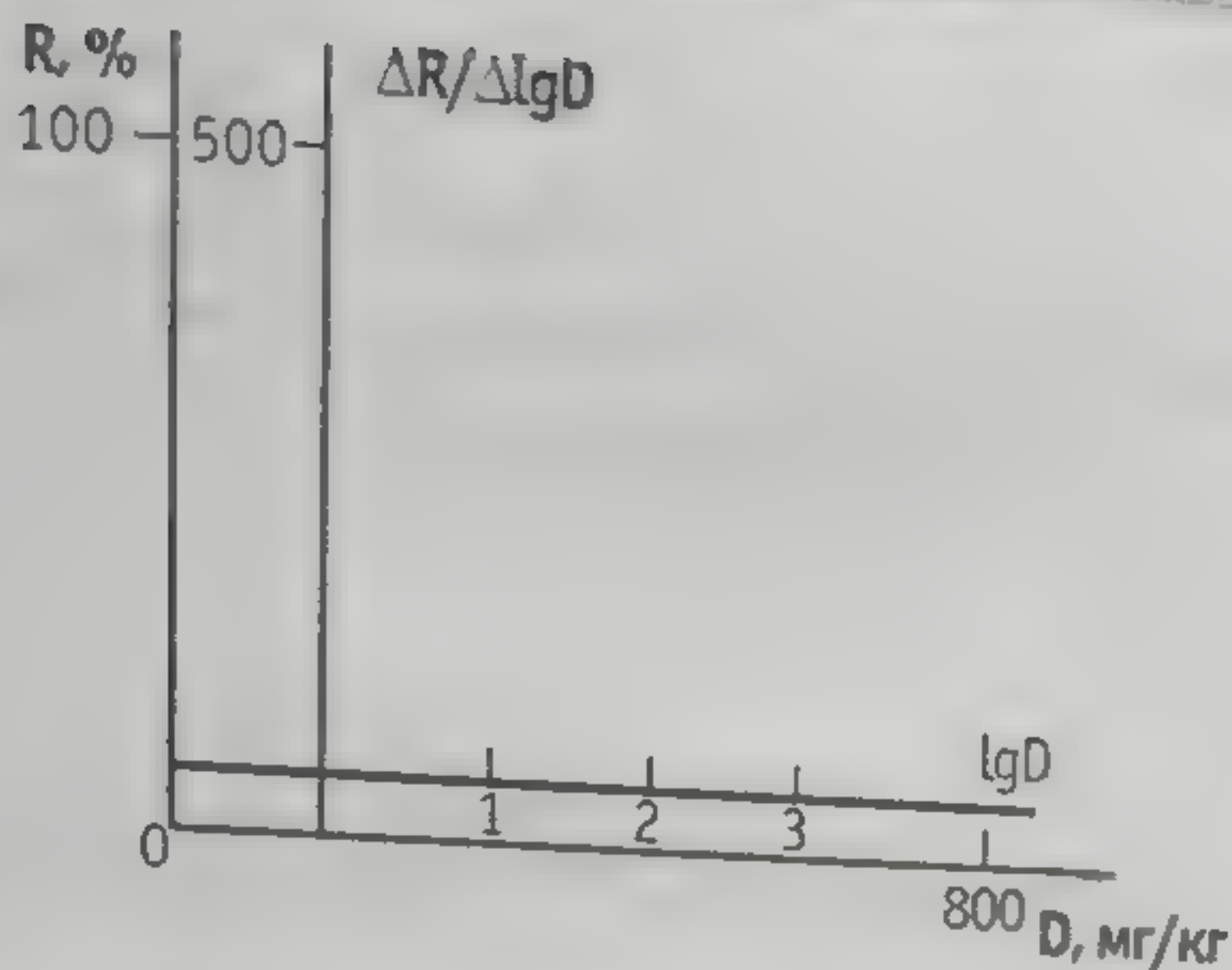
Обсудите соответс  
й и в экстремальн

Результаты оценк  
при воздейств

	Доза	
	D, мг/кг	lgD
1	10	
2	25	
3	60	
4	120	
5	140	
6	200	
7	300	
8	600	
9	800	

12. Как извест  
емени не учиты  
я характеристик  
же при однокра  
По результатам  
редставленные в





Обсудите соответствие между  $DL_{50}$  на интегральной кривой и в экстремальной точке на дифференциальной кривой.

Таблица 2.1

Результаты оценки выживаемости/гибели (R) животных при воздействии разных доз (D) токсикантов

Доза	Ответ				
	D, мг/кг	lgD	$ \Delta \lg D $	R, %	$\frac{\Delta R}{\Delta \lg D}$
1	10			5	
2	25			17	
3	60			30	
4	120			50	
5	140			75	
6	200			87	
7	300			92	
8	600			98	
9	800			99	

12. Как известно, в зависимостях «доза-эффект» фактор времени не учитывается. Между тем он играет важную роль для характеристики взаимодействия вещества с организмом.

По результатам опыта на белых мышах при внутримышечном введении иприта были получены значения  $DL_{50}$ , представленные в таблице 2.2.





Таблица 2.2

Зависимость  $DL_{50}$  иприта при внутримышечном введении белым мышам от времени наблюдения (отдельные группы животных)

$DL_{50}$ , мг/кг	t, сут
$24,5 \pm 2,7$	1
$15,3 \pm 2,1$	2
$9,3 \pm 1,7$	3
$3,6 \pm 0,4$	9

Постройте график зависимости  $DL_{50}$  от времени наблюдения. По графику оцените значения  $DL_{50}$  в группах животных, наблюдение за которыми проводилось в течение 5 сут. Сравните полученные результаты с данными рисунка 7 учебника (с. 37). Сделайте вывод о соотношении  $DL_{50}$  при остром и хроническом отравлении.

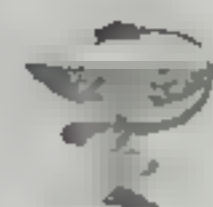
### V III. Итоговый тест

#### Примеры вопросов итогового теста

##### 1. Найдите соответствия:

Методика изолирования токсиканта	Класс токсиканта
1. Изолируемые методом перегонки с водяным паром	a) летучие яды
2. Изолируемые экстракцией полярным растворителем с $pH < 7$	b) металлические яды
3. Изолируемые экстракцией неполярным растворителем	c) пестициды
4. Изолируемые путем минерализации биоматериала	d) алкалоиды и другие вещества основной природы
5. Изолируемые настаиванием биопробы с водой	e) кислоты, щелочи и их соли
6. Нетребующие пробоподготовки	f) ядовитые газы (например, CO)





2. Отметьте недостающее слово:

«Остаточные признаки повреждения нервной, иммунной, эндокринной систем характерны для ... периода отравления».

3. Отметьте недостающее слово:

«Полиорганная недостаточность характерна для ... периода отравления».

4. Отметьте недостающее слово:

«Медиаторные токсикосиндромы характерны для ... периода отравления».

5. Окраска рвотных масс при остром отравлении может быть обусловлена (см. приложение 2.2):

- a) солями кобальта;
- b) солями меди;
- c) солями цинка;
- d) пикриновой кислотой;
- e) азотной кислотой;
- f) гормональными препаратами;
- g) препаратами железа;
- h) хлороводородной кислотой.

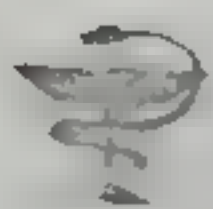
6. «Металлический привкус» во рту появляется при отравлении (см. приложение 2.3):

- a) солями железа;
- b) метронидазолом;
- c) тетрациклином;
- d) соединениями мышьяка;
- e) органическими соединениями ртути;
- f) азотной кислотой.

7. Специфический запах, исходящий от больного, характерен при отравлении (см. приложение 2.4):

- a) HCN;
- b) солями ртути;
- c) H<sub>2</sub>S;
- d) солями бария;
- e) H<sub>2</sub>Se;





- f)  $\text{AsH}_3$ ;
- g) производными пиперидина;
- h) скипидаром;
- i)  $\text{CH}_3\text{Cl}$ ;
- j) солями меди.

8. *Нарушение слуха могут вызвать (см. приложение 2.5):*

- a) фуросемид;
- b) канамицин;
- c) стрептомицин;
- d) салицилаты;
- e) цисплатин;
- f) соединения мышьяка;
- g) соединения ртути;
- h) толуол;
- i) хинин.

9. *Найдите соответствия (см. приложение 2.6):*

Патологический процесс	Лекарственное средство
1. Воспаление конъюнктивы и роговицы	a) хинин, препараты наперстянки, соли таллия
2. Нарушение цветоощущения	b) глюкокортикоиды, имипрамин
3. Развитие катаракты	c) левомицетин, сердечные гликозиды, верапамил, изониазид, сульфаниламидные препараты
4. Развитие миопии	d) стрептомицин, изониазид, сульфаниламиды, хинин, метанол
5. Повреждение сетчатки глаза	e) пенициллины, левомицетин, стрептомицин
6. Атрофия зрительного нерва	f) средства, вызывающие мидриаз

10. *Различают следующие периоды отравления:*

- a) рекомпрессии;
- b) токсикогенный;
- c) продромальный;
- d) скрытый;



- e) соматогенный;
- f) восстановительный;
- g) манифестационный.

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 24–37.
3. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. — М.: Медицина, 1999. — 413 с.
4. Essentials of Toxicology / Ed. Curtis, D. Klaasen, John Watkins. — N.Y.: Medical Publishing Division, 2003. — 535p.



## ЗАНЯТИЕ 3

### ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ. ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА АНТИДОТОВ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторно-практическое занятие «Изучение механизмов действия антидотов различной химической природы».

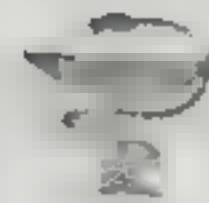
#### *Целевые задачи*

- изучить известные классификации антидотов;
- познакомиться с основными принципами и методами детоксикации организма при острых отравлениях;
- экспериментально показать различие в эффективности разнообразных антидотов адсорбционной и химической природы. Подтвердить результаты справочными данными (энергия химической связи в системе яд-антидот, константы равновесий для процессов детоксикации).

#### *Краткое теоретическое введение*

В токсикогенном периоде острых отравлений в крови содержится токсическая концентрация яда. При этом наблюдаются специфические симптомы отравления, определяющиеся избирательной токсичностью яда и природой ре-





цепторов-мишеней. Например, фосфорорганические пестициды, ингибирующие холинэстеразу и возбуждающие М- и Н-холинорецепторы, вызывают мускарино- и никотиноподобную симптоматику: потливость, саливацию, бронхоспазм, миоз. Кроме того, в токсикогенной фазе наблюдаются курарепоподобная симптоматика (периферические парезы) и интоксикационные психозы. После очищения организма от фосфорорганических соединений в *соматогенной фазе* развиваются синдромы, связанные с токсическим поражением определенных органов и систем организма: острая почечная/печеночная недостаточность, пневмония, энцефалопатия, вторичный иммунодефицит.

При остром отравлении проводят *клиническую, лабораторную и патоморфологическую* (в случае смертельных отравлений) *диагностику*. При *клинической диагностике* анализируется «история» отравления: собираются данные анамнеза, анализируется клиническая картина отравления. Направление последующих лабораторных исследований базируется на первичном клиническом диагнозе отравления, например отравление этанолом, барбитуратами, фенотиазинами, бензодиазепинами, фосфорорганическими соединениями.

*Лабораторная диагностика* включает *специфические токсикологические исследования (направленный анализ)*, необходимые для быстрого (экстренного) обнаружения токсичного вещества в биожидкостях организма, крови и моче. Как правило, при этом используют хроматографические и спектрофотометрические экспресс-методики. Кроме того, проводят биохимические исследования, позволяющие оценить активность ферментов (холинэстеразы при отравлении фосфорорганическими пестицидами), обнаружить метгемоглобинемию (отравление нитритами), карбоксигемоглобинемию (отравление угарным газом). Важное значение имеют данные биохимических показателей крови (креатинин, мочеви́на, билирубин, ферменты, электролиты), отражающих степень поражения печени и почек.

На основании клинических подходов и токсикометрических характеристик яда степень отравления характеризуется следующим образом. Начальная клиническая симптоматика





тика с благоприятным прогнозом наблюдается при пороговой концентрации яда в крови. При критическом содержании яда необходимы неотложные детоксикационные и иные лечебные мероприятия. При смертельных дозах компенсаторные возможности организма истощены, и состояние больного в значительной степени зависит от индивидуальной резистентности к яду.

Лечение острых отравлений включает: стимуляцию естественной детоксикации, искусственную детоксикацию, специфическую (антидотную) и симптоматическую терапию.

Естественная детоксикация (восстановление химического гомеостаза) обеспечивается функционированием нескольких детоксикационных систем организма: крови, печени, экскреторных органов (ЖКТ, легкие, почки). Иммунная система обеспечивает детоксикацию при отравлении высокомолекулярными соединениями, которые связываются с иммуноглобулинами (взаимодействие антиген-антитело). Белки крови, например альбумин, являются депо для токсикантов органической и неорганической природы (см. рис. 6 с. 94 учебника). В печени токсиканты подвергаются биотрансформации, сопровождающейся снижением липофильности соединений и повышением их экскреции почками.

При пероральных отравлениях необходимо экстренное очищение ЖКТ от яда. Для этого используют рвотные средства, например апоморфин и ипекакуану. В ранние сроки отравления (1–2 ч) применяют простое и зондовое промывание желудка. При более позднем лечении для очищения от яда тонкого кишечника используют различные слабительные средства (растительные, солевые, масляные) и более действенные средства, увеличивающие перистальтику кишечника, — прозерин, натрия хлорид, гипертонический раствор глюкозы, инсулин (внутривенно, растворы в требуемых дозировках) или серотонина адипинат. Делают также промывание кишечника (зондовый лаваж, клизма). Одновременно вводятся энтеросорбенты.

Метод форсированного диуреза применяют при острых отравлениях водорастворимыми ядами. Сначала с учетом ги-





поволемиического состояния больного проводят инфузионную терапию (физиологический раствор, гипертонический раствор глюкозы, а также для нейтрализации повышенной кислотности — раствор водородкарбоната натрия). На следующем этапе струйно вводят осмотические (мочевина, маннитол) и/или салуретические (лазикс, фуросемид) диуретики. Далее вводят растворы электролитов (калия и натрия хлориды) в объеме, соответствующем диурезу. Форсированный диурез противопоказан при острой сердечно-сосудистой недостаточности и нарушениях функции почек.

При тяжелых формах отравлений применяют *методы искусственной детоксикации*: гемосорбцию (перфузия крови через сорбенты в течение 1–2 ч, высокомолекулярные гидрофобные соединения), гемодиализ (в течение 6–12 ч, аппарат «искусственная почка», гидрофильные низкомолекулярные яды — барбитураты, карбофос, метанол, салицилаты), перитонеальный диализ (удаление токсикантов из жировых депо — хлорированные углеводороды). Применяют также аферетические методы заместительной детоксикации: гемоферез, плазмоферез. При необходимости для быстрой коррекции гемореологии и гемодинамики крови применяют магнитную, ультрафиолетовую и лазерную физиогемотерапию.

*Специфическая (антидотная) терапия* эффективна только в раннем токсикогенном периоде и применяется после идентификации яда в клинико-лабораторных испытаниях. Это связано с высокой специфичностью используемых антидотов. *Биохимические антидоты изменяют биотрансформацию яда* (при отравлении инсулином в качестве антидота применяют глюкозу, при отравлении метанолом или этиленгликолем антидотом служит этанол). *Фармакологические антидоты — это фармакологические антагонисты яда* (отравление холиномиметиком пилокарпином — холинолитик атропин, при отравлении опиоидными анальгетиками — налоксон, при отравлении бензодиазепинами — анексат).

Симптоматическую фармакотерапию применяют для лечения основных патологических синдромов при острых отравлениях — экзотоксического шока и первичного кардиотоксического эффекта.





## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. Неотложная помощь при острых отравлениях включает:

- a) методы активной детоксикации;
- b) специфическую антидототерапию;
- c) симптоматическую терапию;
- d) физиотерапевтические процедуры;
- e) использование гомеопатических лекарственных средств.

2. При форсированном диурезе используют:

- a) глюкозу;
- b) апоморфин;
- c) лазикс;
- d) мочевины;
- e) маннитол;
- f) кальция хлорид.

3. Выберите антидоты:

- a) бемегрид;
- b) тетацин-кальций;
- c) раствор натрия хлорида гипертонический;
- d) унитиол;
- e) натрия водородкарбонат.

4. К методам активной детоксикации относятся:

- a) промывание желудка через зонд;
- b) введение литических смесей;
- c) гемодиализ;
- d) гемосорбция;
- e) перитонеальный диализ;
- f) форсированный диурез;
- g) лапарэктомию;
- h) искусственная вентиляция легких.

5. К симптоматической терапии относятся:

- a) промывание желудка через зонд;
- b) введение литических смесей;

c) гемо  
d) гемо  
e) тран  
f) введе  
g) введе

6. Пере  
барбитура  
единениям

7. К рв

a) кони  
b) изот  
c) поро  
d) сир  
e) гипер  
f) раст  
g) сир

8. Наз  
отравлени

a) керо  
b) силь  
c) раст  
d) фено  
e) триц  
f) барб

9. Най

Токе

1. Йод  
2. Серебра  
3. Калия п  
4. Формали  
5. Бензин  
6. Кислоты





- с) гемодиализ;
- д) гемосорбция;
- е) трансфузия питательных смесей;
- ф) введение сердечно-сосудистых средств;
- г) введение витаминов.

6. Перечислите антидоты при отравлении метанолом/барбитуратами/ парацетамолом/соединениями свинца/ соединениями ртути. Обоснуйте свой выбор.

7. К рвотным средствам относятся:

- а) концентрированный раствор пищевой соли;
- б) изотонический раствор натрия хлорида;
- с) порошок горчицы;
- д) сироп корня ипекакуаны;
- е) гипертонический раствор кальция хлорида;
- ф) раствор апоморфина;
- г) сироп корня солодки.

8. Назначение рвотных средств противопоказано при отравлении:

- а) керосином и бензином;
- б) сильными кислотами и щелочами;
- с) растительными алкалоидами;
- д) фенолом и крезолом;
- е) трициклическими антидепрессантами;
- ф) барбитуратами.

9. Найдите соответствия:

Токсикант	Жидкость для нейтрализации токсиканта при промывании желудка
1. Йод	а) вазелиновое масло, затем вода с активированным углем
2. Серебра нитрат	б) изотонический раствор натрия хлорида
3. Калия перманганат	с) 1% -ный р-р мочевины
4. Формалин	д) 1% -ный р-р аскорбата натрия
5. Бензин	е) 0,5% -ный р-р тиосульфата натрия
6. Кислоты	ф) 0,2% -ный р-р сульфата меди
	г) 2% -ная взвесь магния оксида





## 10. Соотнесите понятия:

Группа антидотов	Пример антидотов
1. Антидоты, действие которых основано на физических процессах	a) метиленовый синий
2. Антидоты, действие которых основано на химической реакции с токсикантом	b) антитела к дигоксину c) активированный уголь d) этанол
3. Антидоты, действие которых основано на образовании более активных соединений с высоким сродством к яду (проантидоты, антидоты-предшественники)	e) ацетилцистеин f) нитрит натрия g) натрия гидрокарбонат h) унитиол
4. Антидоты, действие которых основано на конкурентном взаимодействии с рецептором-мишенью (фармакологические антидоты)	i) пиридоксин (витамин B <sub>6</sub> ) j) D-пеницилламин
5. Антидоты, действие которых основано на вмешательстве в метаболизм яда	k) бемегрид l) налоксон
6. Антидоты, действие которых основано на иммунных процессах (иммунные антидоты)	

## V II. Лабораторно-практическое занятие «Изучение механизмов действия антидотов различной химической природы»

### Целевые задачи:

- провести сравнительный анализ адсорбционной способности антидотов-адсорбентов (активированный уголь, полифепан);
- обсудить механизмы взаимодействия антидотов-хелатообразователей с ионами тяжелых металлов (унитиол, ЭДТА).

**Задание 1.** Сравнительный анализ адсорбционной способности антидотов-адсорбентов (активированный уголь, полифепан)

Приготов  
(модель ксе  
тоэлектрок  
кюветы 1 см  
Активир  
Точные нав  
тите в цили  
бавьте по 1  
гично взбал  
чего отфиль  
ной 1 см и  
волны ( $\lambda =$   
Рассчита  
сорбций  $A_0/$   
Испытан  
фективности

Сравнени

Проба

Исходный ра  
метиленового  
Раствор посл  
ботки актив  
ным углем  
Раствор посл  
ботки полифе

Приготов  
него (проба  
ните раствор





### 1-й вариант

Приготовьте  $1,5 \cdot 10^{-3}\%$ -ный раствор метиленового синего (модель ксенобиотика) и измерьте его абсорбции ( $A_0$ ) на фотоэлектроколориметре при длине волны  $\lambda = 665$  нм (толщина кюветы 1 см).

Активированный уголь и полифепан разотрите в ступке. Точные навески полученных порошков (около 0,1 г) поместите в цилиндры с притертой пробкой объемом 50 мл и добавьте по 15 мл раствора метиленового синего. Смеси энергично взбалтывайте в течение 5 мин, оставьте на 0,5 ч, после чего отфильтруйте. Фильтраты поместите в кюветы толщиной 1 см и измерьте абсорбцию ( $A_1$  и  $A_2$ ) при той же длине волны ( $\lambda = 665$  нм).

Рассчитайте эффективность адсорбции как отношение абсорбций  $A_0/A_1$  и  $A_0/A_2$ .

Испытания проводят для двух антидотов и сравнивают эффективности адсорбции. Результаты заносят в таблицу 3.1.

Таблица 3.1

Сравнение эффективности адсорбции метиленового синего активированным углем и полифепаном фотоколориметрическим методом

Проба	Эффективность		Вывод об адсорбционной активности антидотов
	$A_{665}$	адсорбции, $k_{\text{адс}}$	
Исходный раствор метиленового синего		$A_0$	
Раствор после обработки активированным углем		$A_0/A_1 =$	
Раствор после обработки полифепаном		$A_0/A_2 =$	

### 2-й вариант

Приготовьте  $7,5 \cdot 10^{-3}\%$ -ный водный р-р метиленового синего (проба № 1). Кювету фотоколориметра ( $l = 1$  см) заполните раствором и измерьте абсорбцию ( $A_0$ ) при длине волны





$\lambda = 665$  нм. В 4 конические колбы на 100 мл налейте по 10 мл раствора (пробы № 2–5). Колбы установите на магнитные мешалки, включите их, обеспечивая одинаковую скорость перемешивания. В момент включения секундомера в каждую колбу высыпьте заранее приготовленные навески (по 0,02 г) активированного угля. Через 5 мин пробу № 2 отфильтруйте через складчатый фильтр и определите оптическую плотность (абсорбцию света)  $A_1$ . Также поступите с другими растворами (пробы № 3–5), измерив их абсорбцию ( $A_3$ ,  $A_4$ ,  $A_5$ ) через 7, 10 и 12 мин соответственно.

Результаты занесите в таблицу 3.2. Аналогичный опыт проводят с полифепаном.

Таблица 3.2

Кинетика связывания метиленового синего активированным углем/полифепаном

№ пробы	Время от момента введения адсорбента (антидота)	Значение $A_{665}$	$\lg A_{665}$
1	0		
2	5		
3	7		
4	10		
5	12		

Постройте кинетические кривые  $A = F(t)$  в арифметических ( $t - A$ ) и полулогарифмических ( $\lg A - t$ ) координатах. По наклону полученных прямых определите константы скорости связывания токсиканта (метиленового синего) с антидотом-адсорбентом. Сделайте вывод об эффективности антидотов.

**Задание 2.** Изучение механизмов взаимодействия антидотов-хелатообразователей (унитиол, ЭДТА) с тяжелыми металлами ( $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ )

В штатив поместите 8 пробирок (2 ряда по 4 пробирки).

В пробирки ближнего и дальнего ряда налейте по 1 мл 0,01 моль/л растворов нитратов:  $Pb(NO_3)_2$ ,  $Cu(NO_3)_2$ ,  $Cd(NO_3)_2$ ,  $Zn(NO_3)_2$ . Во все пробирки добавьте несколько капель 1 ммоль/л р-ра натрия гидроксида (так, чтобы не раствори-





лись осадки амфотерных гидроксидов цинка и кадмия). Далее в ближний ряд пробирок добавьте 1 каплю 0,1 моль/л раствора ЭДТА, а в дальний ряд — 1 каплю 0,1 моль/л р-ра унитиола (димеркаптопропансульфоната). Отметьте наблюдаемые изменения в таблице 3.3.

Таблица 3.3

**Результаты наблюдений взаимодействий ионов токсичных элементов с антидотами**

Реагент	Наблюдения			
	Pb <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>
1 ммоль/л р-р NaOH				
0,1 моль/л р-р ЭДТА				
0,1 моль/л р-р унитиола				

Сделайте выводы о механизмах взаимодействия и прочности связывания отдельных ионов антидотами-хелатообразователями.

Напишите реакции образования хелатных комплексов антидотов с металлами и сравните значения констант произведения растворимости ( $K_{пр}$ ) гидроксидов и сульфидов металлов. Приведите значение констант устойчивости комплексов ЭДТА с разными ионами; сделайте вывод о прочности связывания.

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 38–49.
3. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. — М.: Медицина, 1999. — 413 с.
4. Essentials of Toxicology / Ed. Curtis, D. Klaasen, John Watkins. — N.Y.: Medical Publishing Division, 2003. — 535p.
5. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. — М.: Химия, 1979. — 480 с.



## ЗАНЯТИЕ

4

# ТОКСИКОДИНАМИКА. МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА

### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторно-практическое занятие «Изучение механизмов формирования токсического эффекта».
- III. Итоговый тест.

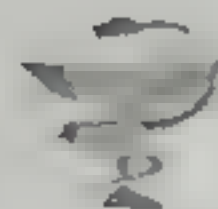
### *Целевые задачи*

- ознакомиться с основными терминами и определениями токсикодинамики;
- изучить равновесные процессы формирования токсических эффектов;
- ознакомиться со стадиями формирования токсического эффекта;
- изучить типы взаимодействия в системе токсикант — рецептор;
- изучить влияние природы алкильного радикала на липофильность и токсичность ксенобиотика.

### *Краткое теоретическое введение*

Токсикодинамика — раздел биохимической токсикологии, изучающий равновесные процессы с участием ксенобиотиков при формировании токсического эффекта в организме





на системном, органном, тканевом, клеточном, субклеточном, молекулярном, субмолекулярном уровнях.

Механизмы формирования токсических эффектов могут быть описаны на основе II начала термодинамики и вытекающего из него закона действующих масс (ЗДМ) для равновесия. Формирование токсического эффекта включает четыре стадии:

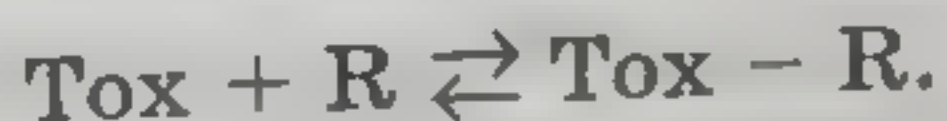
- доставку токсиканта к органу (органам)-мишени;
- взаимодействие с эндогенными молекулами-мишенями и другими рецепторами токсичности;
- инициирование нарушений в структуре и/или функционировании клеток;
- восстановительные процессы на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях.

Взаимодействие токсиканта с молекулярными мишенями происходит по лиганд-рецепторному механизму.

*Рецептор токсичности* — это участвующая в метаболизме клетки химически активная группировка или частица-мишень, с которой взаимодействует молекула ксенобиотика.

#### ***«Оккупационная» теория взаимодействия ксенобиотика с рецептором***

Сродство токсиканта к рецептору можно оценить долей занятых рецепторов (отношение числа занятых рецепторов к общему числу рецепторов:  $N_{\text{зан}}/N_{\text{общ}}$ ). Согласно «оккупационной» теории максимальный токсический эффект наблюдается при полном заполнении рецепторов токсикантом. Сродство токсиканта к рецептору определяется прочностью возникающей химической связи и количественно может быть оценено энергией химической связи ( $E^{\text{CB}}$ ) или величиной константы равновесия ( $K$ ) образования комплекса  $\text{Tox} - \text{R}$ :



Прочность связывания ксенобиотика с рецептором можно оценить на основе квантово-механической трактовки образования химической связи. С этой точки зрения наиболее важны четыре типа химической связи: ковалентная, ионная (электростатическая), водородная и вандерваальсова.



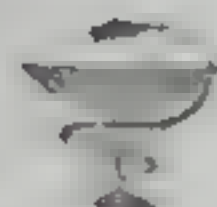


Наиболее прочная химическая связь — *ковалентная*. Она образуется при формировании молекулярной орбитали из атомных орбиталей атомов токсиканта и рецептора. Энергия ковалентной связи составляет от 250 до 1000 кДж/моль. Менее прочной разновидностью ковалентной связи является *координационная* связь, которая образуется в том случае, если оба электрона поступают от одного атома. *Электростатическая* сила играет важную роль при взаимодействии токсиканта с рецепторами. В подобных взаимодействиях участвуют электростатические силы, поскольку они имеют большой радиус действия. Энергия ионной связи составляет около 20 кДж/моль. *Водородная* связь образуется при очень малом расстоянии между взаимодействующими атомами. Энергия водородной связи составляет 3–5 ккал/моль. Она обладает высокой избирательностью и направленностью и играет важную роль при связывании токсиканта с рецептором. *Вандерваальсова* сила образуется, если два атома, принадлежащие разным молекулам, оказываются на достаточно близком расстоянии. Она образуется вследствие колебаний атомов молекул и образования временных диполей, индуцирующих диполи в соседних молекулах. Действие вандерваальсовой силы проявляется при сближении молекул и взаимодействии многих атомов одной молекулы с атомами другой. В этом случае может возникнуть прочная связь, энергия которой может составлять 20 кДж/моль.

***Кинетическая теория взаимодействия ксенобиотика с рецептором***

Согласно кинетической теории максимальный ответ на токсическое воздействие может быть получен тогда, когда вещество занимает лишь незначительную часть доступных рецепторов и определяется не числом занятых рецепторов, а скоростью и механизмом связывания токсиканта с рецептором. При этом величина ответа на токсическое воздействие нелинейно зависит от доли занятых рецепторов. Эффективность токсического воздействия характеризуется внутренней активностью ( $R/N_{\text{зан}}$ ) токсиканта, т.е. способностью вызы-





вать токсический эффект (ответ организма  $R$ ) при минимальном заполнении рецепторов ( $N_{зан}$ ).

Существуют следующие классы токсикантов, взаимодействующих с рецепторами, — *антагонисты*, *агонисты*, *частичные агонисты*. Токсикант-антагонист ингибирует действие нативных субстратов (эндогенных соединений), блокируя их связывание с рецепторами. Действие *токсиканта-агониста* (полного или частичного) сходно с действием эндогенного соединения, поэтому такой токсикант называют «токсикомиметик». Взаимодействуя с теми же рецепторами, полный агонист активирует их и вызывает такой же или превышающий эффект нативного субстрата. Токсичность *частичного агониста* также проявляется вследствие конкуренции с эндогенным субстратом за активацию рецептора, но достигаемый ответ последнего значительно ниже.

#### Изотерма Ленгмюра

$$Г = Г_{\infty} \cdot (C / \alpha + C),$$

где  $Г_{\infty}$  — константа, равная предельной адсорбции, наблюдаемой при относительно больших равновесных концентрациях, моль/м<sup>3</sup>;

$\alpha$  — константа, равная отношению константы скорости десорбции к константе скорости адсорбции.

Математически зависимость между ответом и дозой (концентрацией) токсиканта можно представить уравнением, аналогичным изотерме адсорбции Ленгмюра:

$$R = R_{\max} \cdot D / (D + D_{50}),$$

где  $R$  — ответ при дозе токсиканта  $D$ ;

$R_{\max}$  — максимально возможный ответ на воздействие;

$D_{50}$  — доза токсиканта, при которой наблюдается половина (50%) максимально возможного ответа.

Для нахождения числовых значений максимального токсического ответа и дозы  $D_{50}$  вышеуказанное уравнение приводят к уравнению прямой (рис. 4.1), для чего единицу делят на обе части уравнения:

$$\frac{1}{R} = \frac{1}{R_{\max}} + \frac{D_{50}}{R_{\max}} \times \frac{1}{D}.$$



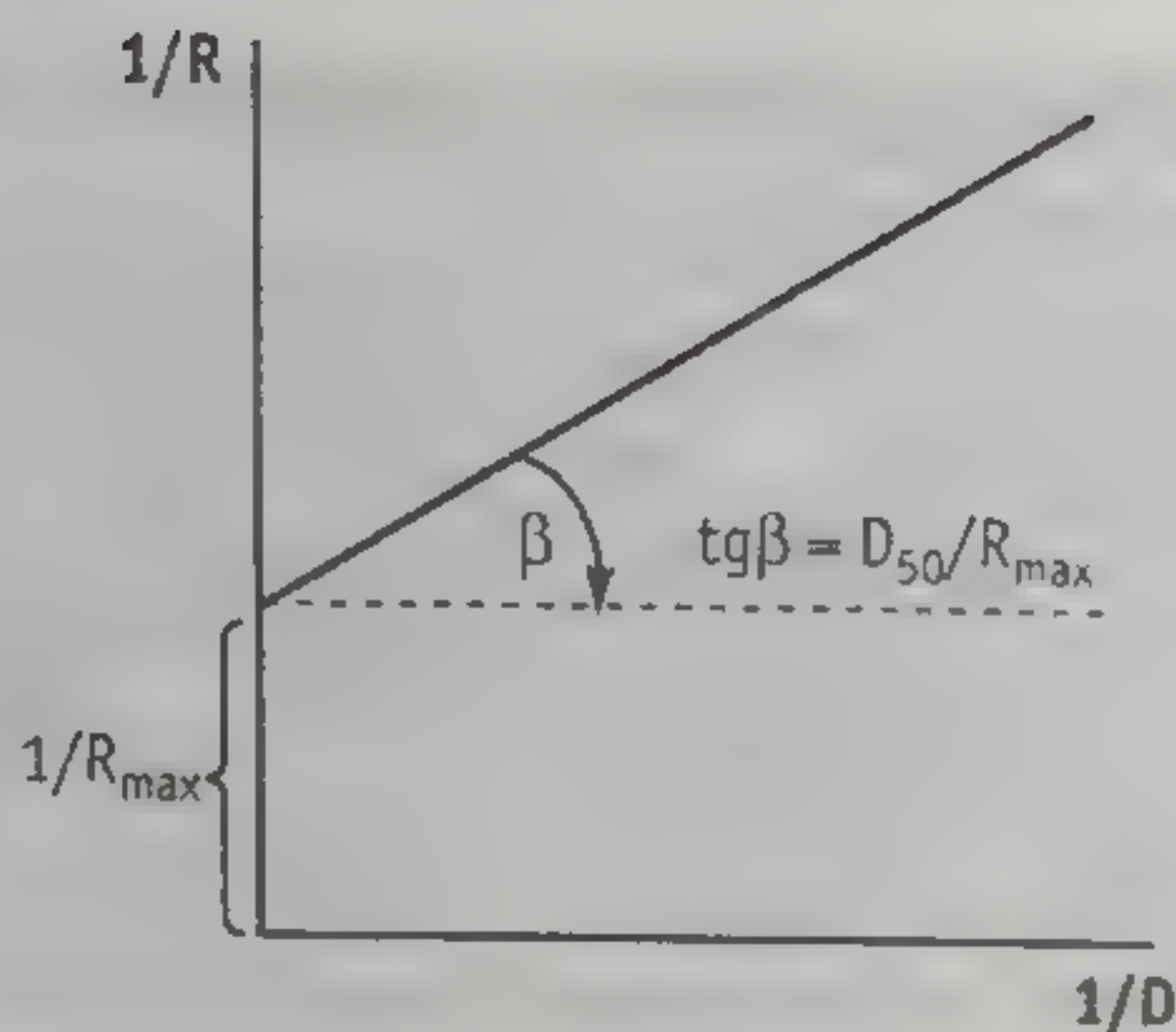
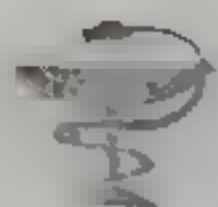


Рис. 4.1. Нахождение токсикометрических параметров графическим методом

В координатах  $1/R$  —  $1/D$  тангенс угла наклона прямой равен отношению  $D_{50}/R_{\max}$ , а отрезок ординаты от начала осей координат до ее пересечения с прямой численно равен  $1/R_{\max}$ .

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. Интенсивность действия яда на организм зависит от:

- a) пути поступления;
- b) химической природы;
- c) количества поступившего яда;
- d) скорости элиминации.

2. Абсорбция ксенобиотиков через кожу протекает:

- a) одинаково через любые кожные покровы отдельных частей тела;
- b) путем активного транспорта через роговой слой (*stratum corneum*);
- c) путем пассивной диффузии через роговой слой (*stratum corneum*);
- d) преимущественно путем пассивной диффузии через волосяные фолликулы, потовые протоки (поры) и сальные железы.





3. Ксенобиотики проявляют токсичность, нарушая:

- a) энергетику клеточного метаболизма;
- b) внутриклеточное содержание кальция;
- c) лиганд-рецепторное взаимодействие;
- d) почечную экскрецию эндогенных соединений.

4. Транспорт токсиканта через биологические мембраны протекает по следующим механизмам:

- a) диффузия через ионные каналы;
- b) гидролиз в цитоплазме;
- c) диффузия через липидный бислой;
- d) специальный транспорт с помощью белков-переносчиков.

5. Выражение, описывающее процесс активного транспорта:

- a) ксенобиотик перемещается из области высокой концентрации в область низкой концентрации;
- b) ксенобиотик перемещается в соответствии с градиентом электрохимического потенциала при участии посредников-переносчиков;
- c) химическое вещество перемещается через мембрану при использовании дополнительной энергии;
- d) введение метаболических ингибиторов, блокирующих выделение энергии, стимулирует транспорт.

6. Ксенобиотики, участвующие в энтерогепатической циркуляции, абсорбируются:

- a) жировой тканью и гепатоцитами, экскретируются желчью;
- b) клетками кишечника, экскретируются с фекалиями;
- c) энтероцитами, всасываются в кровь, экскретируются желчью;
- d) энтероцитами, элиминируются гепатоцитами, всасываются в кровь, экскретируются желчью.

7. Правильные утверждения о транспорте ксенобиотика через мембрану:

- a) незначительное количество ионизированной формы химического вещества диффундирует внутрь клетки;





- b) фагоцитоз заключается в выведении твердых химических веществ из клетки;
- c) размер площади абсорбирующей поверхности влияет на простую (облегченную) диффузию;
- d) эффективность энергозависимого переносчика, участвующего в транспорте через мембрану, не зависит от градиента концентраций.

**8. Правильные определения:**

- a) терапевтический индекс равен отношению летальной дозы  $DL_{50}$  к эффективной дозе  $DE_{50}$ ;
- b) эффективность лекарственного средства по смыслу аналогична его токсичности;
- c) агонист — это химическое вещество, присоединяющееся к рецептору и вызывающее ответ;
- d) антагонист — это химическое вещество, присоединяющееся к рецептору и не вызывающее (блокирующее) ответ.

**9. Способы трансмембранного переноса токсикантов:**

- a) пассивная диффузия;
- b) активный транспорт;
- c) биотрансформация;
- d) фильтрация;
- e) пиноцитоз;
- f) фагоцитоз.

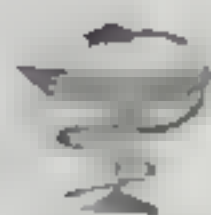
**10. Выведение ксенобиотиков из организма наиболее интенсивно происходит:**

- a) с выдыхаемым воздухом;
- b) через кожу;
- c) с молоком и потом;
- d) при почечной экскреции.

**11. Токсикодинамика изучает:**

- a) структуру метаболитов ядов;
- b) механизмы формирования токсических эффектов;
- c) физические и химические свойства ксенобиотиков;
- d) движение ксенобиотиков в организме;
- e) методы детоксикации организма при отравлении.





## V II. Лабораторно-практическое занятие «Изучение механизмов формирования токсического эффекта»

Подготовьте ответ по индивидуальной карточке заданий для участия в семинаре, используя вспомогательный материал

### Образцы задач, входящих в карточки индивидуального задания

1. Расшифруйте понятия «токсикодинамика», «токсический фактор». Перечислите факторы токсичности.
2. Дайте характеристику рецепторов токсичности.
3. Охарактеризуйте понятия «агонист» и «антагонист» рецептора на конкретных примерах. Приведите графики в координатах «доза (концентрация)-ответ».
4. Объясните, какие типы и какова прочность связей в системе «токсикант-рецептор».
5. Дайте характеристику «оккупационной» теории действия токсичных веществ.
6. Дайте характеристику «кинетической» теории действия токсичных веществ.

#### Задание 1

По представленным экспериментальным результатам (табл. 4.1) постройте график, отражающий зависимость минимальной эффективной концентрации  $CE_{min}$ , вызывающей снижение подвижности головастиков, от коэффициента распределения масло/вода ( $K$ ) токсикантов. Сделайте вывод о влиянии липофильности токсиканта на его токсические свойства.

Таблица 4.1

Зависимость биологического торможения (снижение подвижности головастиков) от коэффициента распределения масло/вода

№	Токсикант	$K$ (масло/вода)	$CE_{min}$ , ммоль/л
1	Тринол	4,46	1,8
2	Бутилхлоралгидрат	1,59	2,0





Продолжение табл. 4.1

№	Токсикант	$K_{\text{ (масло/вода)}}$	$CE_{\text{min}}$ , ммоль/л
3	Сульфонал	1,11	6,0
4	Триацетин	0,30	10,0
5	Диоцетин	0,23	15,0
6	Хлоралгидрат	0,22	20,0
7	Этилуретан	0,14	40,0
8	Монацетин	0,06	50,0

### Задание 2

По данным таблицы 4.2 постройте зависимость доли занятых рецепторов от числа атомов углерода ( $N_c$ ) в алкильном радикале  $R$  иона  $R-N(CH_3)_3^+$ . На основании полученного графика сформулируйте основное положение «оккупационной» теории формирования токсического эффекта.

Таблица 4.2

Сравнение активности ионов алкилтриметиламмония  
(холинергических, мускариновых агонистов)  
на подвздошной кишке морской свинки

Число атомов углерода $N_c$ в алкильном радикале	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Доля занятых рецепторов $N_{\text{зан}}/N_{\text{общ}}$	0,2	0,6	1,6	3,8	8,5	19	41	63	110	190

### Задание 3

По данным таблицы 4.3 постройте зависимость ответа на токсическое воздействие  $R/N_{\text{зан}}$  (в расчете на один занятый рецептор) от доли занятых рецепторов ( $N_{\text{зан}}/N_{\text{общ}}$ ). Объясните существование экстремума на графике. Объясните эффект снижения токсического воздействия с ростом размера алкильного радикала и снижением скорости доставки катиона к рецептору. Сделайте вывод о неоднозначности «оккупационной» теории.





Таблица 4.3

Зависимость ответа на токсическое воздействие  $R/N_{зан}$  (в расчете на один занятый рецептор) от доли занятых рецепторов ионов алкилтриметиламмония (холинергических, мускариновых агонистов) на подвздошной кишке морской свинки

Доля занятых рецепторов $N_{зан}/N_{общ}$	0,2	0,6	1,6	3,8	8,5	19	41	63	110	190
Внутренняя активность токсиканта $R/N_{зан}$	94	31	4,3	200	200	21	2,2	1,4	1,0	0,6

#### Задание 4

На рисунках 4.2 и 4.3 представлены зависимости относительного эффекта ( $R/R_{max}$ ), вызываемого эндогенным соединением, от его концентрации в присутствии антагонистов и агонистов (полных и частичных). Найдите соответствие между номером кривой (цифра) и текстом (буква): а) частичный агонист; б) полный агонист; с) эндогенное соединение в отсутствие токсиканта. Проведите аналогию с ферментативным процессом (ингибиторы ферментов и коферменты).

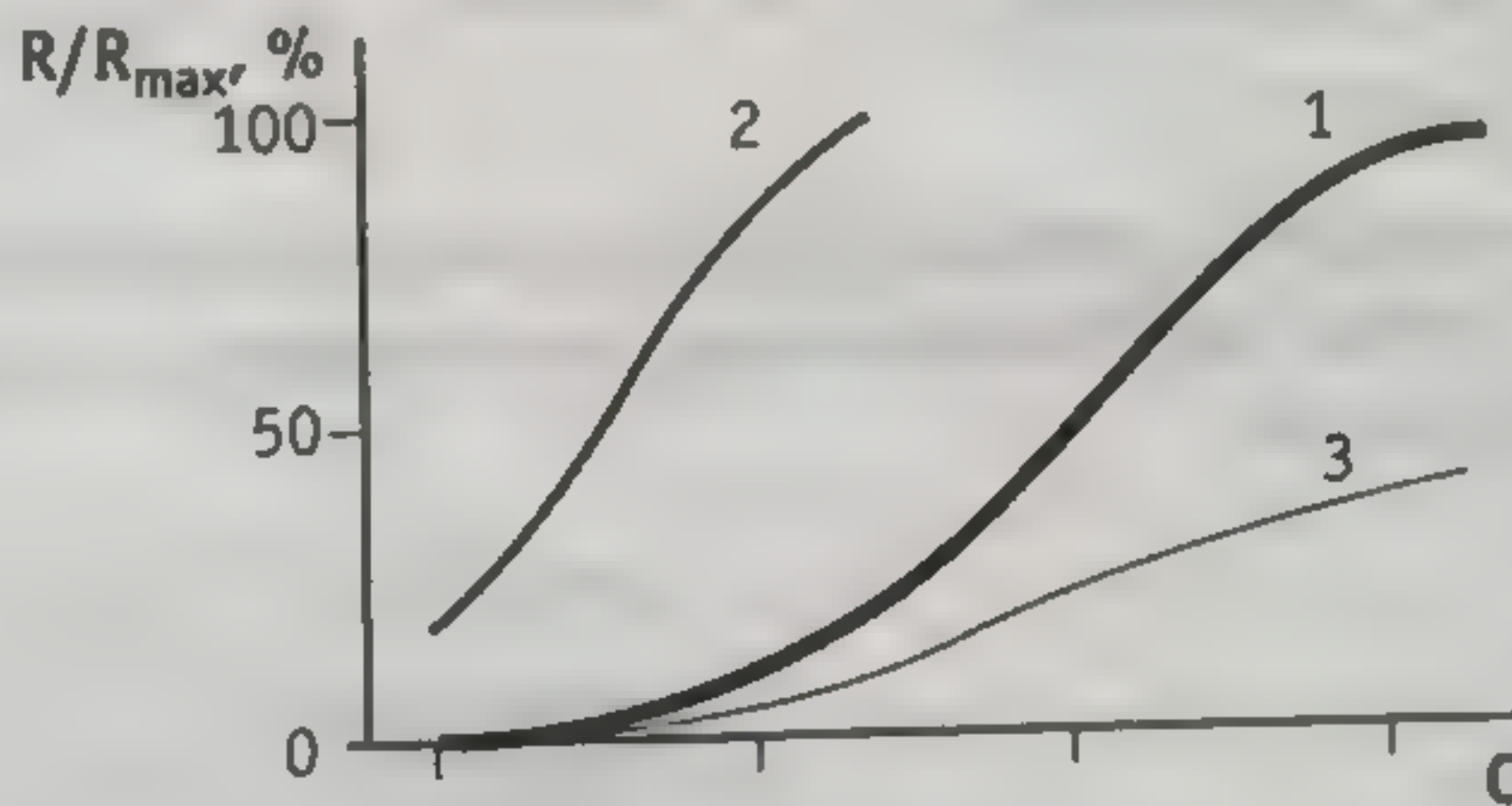


Рис. 4.2. Влияние токсиканта на зависимость «доза (концентрация)-ответ»

Найдите соответствие между кривой (цифра) и текстом (буква): а) в присутствии токсиканта-антагониста; б) эндогенное соединение в отсутствие токсиканта.



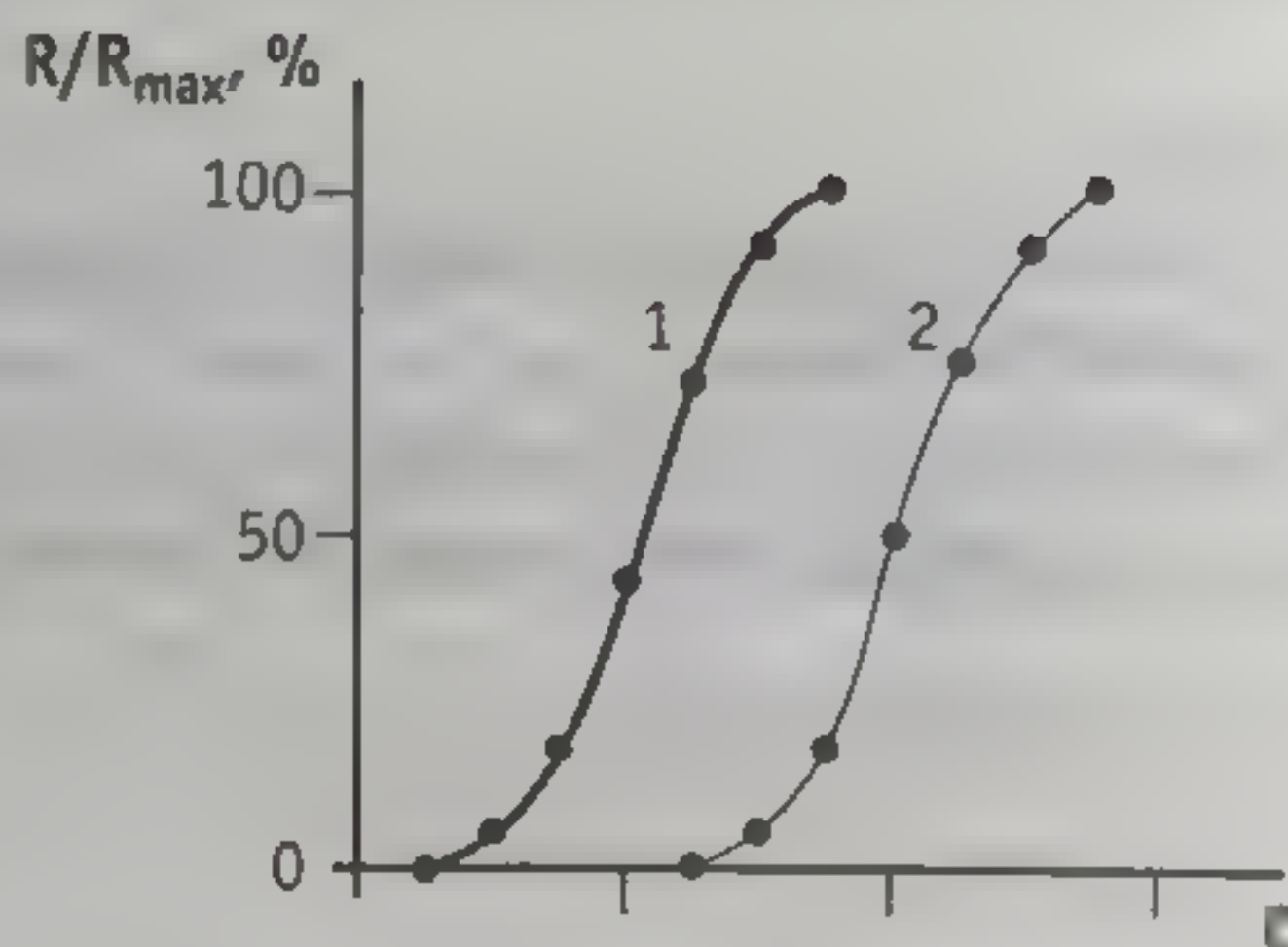


Рис. 4.3. Влияние токсиканта на зависимость «доза (концентрация)-ответ»

## V III. Итоговый тест

### Примеры вопросов итогового теста

1. Способность некоторых соединений проявлять свое токсическое действие за счет связывания биогенных металлов называется:

- a) сольватацией;
- b) гидрофобностью;
- c) хелатообразованием;
- d) гидрофильностью;
- e) канцерогенезом.

2. К каждому токсиканту-агонисту соответствующего типа рецепторов подберите пару вещество — антагонист данного рецептора:

1. Морфин	a) атенолол
2. Никотин	b) тубокурарин
3. Адреналин	c) налоксон

3. Стадии формирования токсического эффекта:

- a) доставка токсиканта к органу (органам)-мишени;
- b) взаимодействие с эндогенными молекулами-мишенями и другими рецепторами токсичности;
- c) инициирование нарушений в структуре и/или функционировании клеток;

d) восстан  
точном

4. Обрат  
ром обеспечи

a) донорн

b) водород

c) ковален

d) ковален

e) ионные

5. Классы

ствия с реце

a) агонист

b) антагон

c) полные

d) частич

6. Равнов

a) формир

b) действи

c) взаимо

d) взаимо

e) сущнос

токсиче

7. Прочно

канта с реце

ской связи:

a) донорн

b) водород

c) ковален

d) ковален

e) ионные

8. Мишен

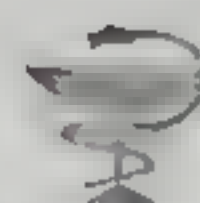
a) костная

b) фермен

c) тиолов

d) почки





d) восстановительные процессы на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях.

4. Обратимое взаимодействие токсиканта с рецептором обеспечивают следующие виды химической связи:

- a) донорно-акцепторные;
- b) водородные;
- c) ковалентные неполярные;
- d) ковалентные полярные;
- e) ионные.

5. Классы токсикантов в зависимости от их взаимодействия с рецептором:

- a) агонисты;
- b) антагонисты;
- c) полные агонисты;
- d) частичные агонисты.

6. Равновесие  $Tox + R \leftrightarrow Tox-R$  описывает:

- a) формирование токсического эффекта;
- b) действие антидота при детоксикации;
- c) взаимодействие эндогенных агонистов с рецептором;
- d) взаимодействие эндогенных антагонистов с рецептором;
- e) сущность закона действующих масс при формировании токсического эффекта.

7. Прочное, практически необратимое соединение токсиканта с рецептором обеспечивают следующие виды химической связи:

- a) донорно-акцепторные;
- b) водородные;
- c) ковалентные неполярные;
- d) ковалентные полярные;
- e) ионные.

8. Мишени токсичности:

- a) костная ткань;
- b) ферментные системы;
- c) тиоловые группы эндогенных соединений;
- d) почки и другие органы и ткани.





## 9. Рецепторы токсичности:

- a) окислительно-восстановительные реакции;
- b) Fe(II) в гемоглобине;
- c) тиоловые группы ферментов;
- d) белки клеточных мембран.

## 10. Согласно «кинетической» теории максимальный токсический эффект определяется:

- a) долей рецепторов, занятых токсикантом;
- b) скоростью и механизмом связывания токсиканта с рецептором;
- c) отношением  $N_{\text{зан}}/N_{\text{общ}}$ ;
- d) числом занятых рецепторов к ответу организма на токсическое воздействие  $N_{\text{зан}}/R$ .

## 11. Согласно «оккупационной» теории максимальный токсический эффект определяется:

- a) долей рецепторов, занятых токсикантом;
- b) скоростью и механизмом связывания токсиканта с рецептором;
- c) отношением  $N_{\text{зан}}/N_{\text{общ}}$ ;
- d) числом занятых рецепторов к ответу организма на токсическое воздействие  $N_{\text{зан}}/R$ .

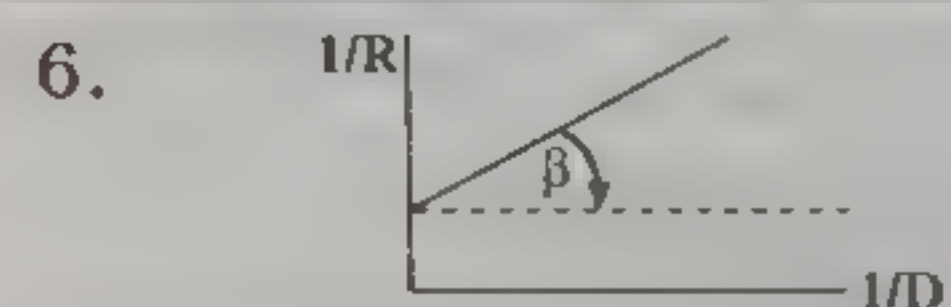
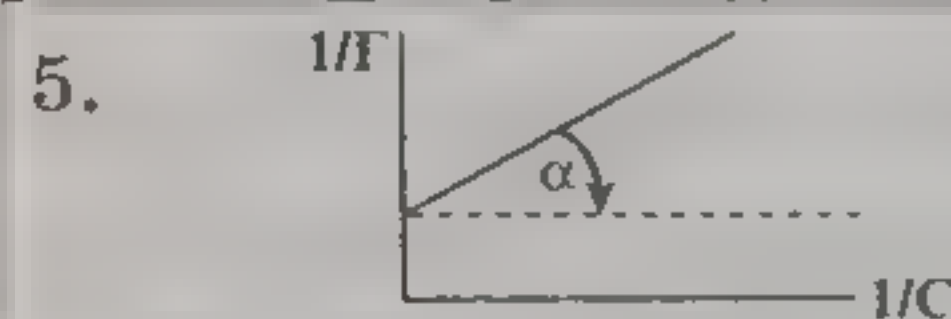
## 12. Найдите соответствия:

1.  $\Gamma = \Gamma_{\infty} \times (C/\alpha + C)$

2.  $\frac{1}{\Gamma} = \frac{1}{\Gamma_{\infty}} + \frac{\alpha}{\Gamma_{\infty}} \times \frac{1}{C}$

3.  $\frac{1}{R} = \frac{1}{R_{\text{max}}} + \frac{D_{50}}{R_{\text{max}}} \times \frac{1}{D}$

4.  $R = R_{\text{max}} \times D/(D + D_{50})$



a) уравнение изотермы адсорбции Ленгмюра

b) зависимость между ответом и дозой

c) тангенс угла наклона  $\beta$ 

$\text{tg} \beta = D_{50}/R_{\text{max}}$ ,  
 где  $D_{50}$  — доза токсиканта, вызвавшая ответ, равный половине максимального;  $R_{\text{max}}$  — максимально возможный ответ на воздействие

d) тангенс угла наклона  $\alpha$   $\text{tg} \alpha = \alpha/\Gamma$ ,  
 где  $\alpha$  — константа, равная отношению константы скорости десорбции к константе скорости адсорбции ( $\alpha = C_{50}$  при  $\Gamma = 0,5 \Gamma_{\infty}$ ).

## Литература

- 1. Материя
- 2. Токсикология
- Т.В. Плетенев
- С. 50-62.
- 3. Альберт
- основы терапии
- 400 с.
- 4. Ершов
- Биофизическая
- вузов / Под ред.
- ла, 2005. — 5



## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 50–62.
3. Альберт А. Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии / Пер. с англ. В 2-х т. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
4. Ершов Ю.А., Попков В.А., Берлянд А.С. и др. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов: Учебник для вузов / Под ред. Ю.А. Ершова. 5-е изд., стер. — М.: Высшая школа, 2005. — 560 с.: илл.



## ЗАНЯТИЕ

# ТОКСИКОДИНАМИКА. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТОКСИКАНТА И БИОЛОГИЧЕСКОЙ СРЕДЫ

### Структура занятия

- I. Входной тест.
- II. Лабораторно-практическое занятие «Потенциометрическое определение значений pH и редокс-потенциалов модельных биологических сред (кровь, моча)».
- III. Итоговый тест.

### Целевые задачи

- изучить зависимость токсичности от физико-химических характеристик токсиканта и биологической среды;
- изучить основные физико-химические характеристики токсиканта, влияющие на механизмы токсичности.

### Краткое теоретическое введение

На формирование токсического эффекта влияют физико-химические свойства химического вещества и биологической среды: агрегатное состояние вещества, размер частиц дисперсной фазы, природа химических связей, структура молекул токсиканта, способность к образованию координационных связей с биолигандами, относительная молекуляр-

ная масса, ле  
окислительн  
ксенобиотик

Токсично  
римости в ж

Степень и  
чения его рК

рK<sub>a</sub> и pH опи

$$pH = pK_a +$$

для кислот H

$$\text{и } pH = pK_a +$$

для основани

Чрезвычай  
пользуемой д

ляются окис

кантов и биос

новительных

кислотной и

ние 5.2) и pH

прогнозиров

иной среде о

## V I. Вход

Примеры в

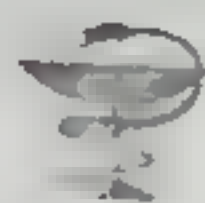
Выберите

1. Абсорб  
мом воздухе

a) раство

b) степе





ная масса, летучесть, липофильность, гидрофильность, рН и окислительно-восстановительный потенциал ( $E^0$ ) биосреды и ксенобиотика.

Токсичность химических веществ зависит от их растворимости в жидких биосредах.

Степень ионизации химического вещества зависит от значения его  $pK_a$  и рН биологической среды. Взаимосвязь между  $pK_a$  и рН описывается уравнением Хендерсона-Хассельбаха:

$$pH = pK_a + \lg \frac{[\text{ионизированная форма}]}{[\text{неионизированная форма}]} = pK_a + \lg \frac{[A^-]}{[HA]}$$

для кислот  $HA \leftrightarrow H^+ + A^-$ .

$$\text{и } pH = pK_a + \lg \frac{[\text{неионизированная форма}]}{[\text{ионизированная форма}]} = pK_a + \lg \frac{[B]}{[BH^+]}$$

для оснований  $BH^+ \leftrightarrow B + H^+$ .

Чрезвычайно важной характеристикой токсиканта, используемой для прогнозирования механизмов токсичности, являются окислительно-восстановительные потенциалы токсикантов и биосред. Рассмотрение значений окислительно-восстановительных потенциалов  $E^0$  (см. приложение 5.1), констант кислотной ионизации токсичного вещества  $K_a$  (см. приложение 5.2) и рН биосреды (см. приложение 5.3) дает возможность прогнозировать форму существования токсиканта в той или иной среде организма (диаграммы рН-потенциал).

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. Абсорбция токсичного газа, содержащегося во вдыхаемом воздухе, зависит от:

- а) растворимости токсиканта в крови;
- б) степени его ионизации;





с) скорости кровотока;

д) константы растворимости  $K_p = C_{\text{кровь}} / C_{\text{газ}}$ .

2. При вдыхании пыли частицы дисперсной фазы диаметром около 1 мкм обычно осаждаются в:

а) альвеолах;

б) бронхах;

с) трахее;

д) области носоглотки.

3. Распределение яда в тканях:

а) зависит от скорости кровотока и размера органа;

б) зависит от растворимости химического вещества в ткани;

с) зависит от градиента концентрации между кровью и тканью;

д) увеличивается для ксенобиотиков, которые связываются с белками плазмы.

4. Наиболее важное физико-химическое свойство токсиканта, обуславливающее его пассивную диффузию через мембрану:

а) молярная масса;

б) растворимость в воде;

с) фазовое состояние;

д) полярность.

5. На абсорбцию химических веществ в ЖКТ влияют:

а) диета;

б) период полувыведения токсиканта из плазмы;

с) pH содержимого желудка;

д) pH плазмы крови.

6. Характеристики токсиканта, связанные с кожной резорбцией:

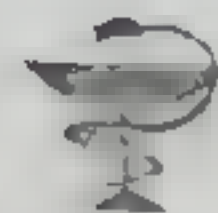
а) выделение яда с желчью;

б) целостность кожи при воздействии токсиканта;

с) физико-химические свойства яда;

д) природа растворителя, используемого для растворения яда.





7. Распределение ксенобиотиков в тканях зависит от:

- a) скорости кровотока и размера органа;
- b) растворимости химического вещества в ткани;
- c) градиента концентрации ксенобиотика между кровью и тканью;
- d) степени связывания ксенобиотика с белками плазмы.

8. С ростом pH водного раствора степень экстракции ксенобиотиков кислотной природы в неполярный органический растворитель:

- a) повышается;
- b) понижается;
- c) не изменяется.

9. С ростом pH водного раствора степень экстракции ксенобиотиков основной природы в неполярный органический растворитель:

- a) повышается;
- b) понижается;
- c) не изменяется.

10. Образование малорастворимых соединений в биосреде приводит к:

- a) снижению их всасывания;
- b) увеличению их всасывания;
- c) снижению их токсичности;
- d) увеличению их токсичности.

11. Токсичность ксенобиотика увеличивается при:

- a) увеличении  $k_N = C_L / C_{H_2O}$ ;
- b) уменьшении  $k_N = C_L / C_{H_2O}$ ;
- c) уменьшении гидрофильности;
- d) увеличении липофильности.

12. Большей токсичностью обладают:

- a) ZnO;
- b) ZnSO<sub>4</sub>;
- c) CuO;
- d) PbO;
- e) CuSO<sub>4</sub>.





13. Токсичность определяется рядом факторов:

- a) физико-химическими свойствами вещества;
- b) дозой;
- c) концентрацией вещества в организме;
- d) способом и скоростью поступления вещества в организм;
- e) полом и массой организма;
- f) индивидуальной переносимостью яда организмом.

14. Физико-химические параметры вещества, влияющие на его токсичность:

- a) растворимость и коэффициент распределения;
- b) кислотно-основные свойства и способность к диссоциации;
- c) способность к комплексообразованию;
- d) поверхностно-активные свойства;
- e) способность к физико-химическим взаимодействиям с эндогенными веществами (лиганд-рецепторное взаимодействие);
- f) редокс-потенциалы.

15. Кислотно-основные свойства ядов учитываются при:

- a) измельчении биоматериала;
- b) вымораживании липидов из биоматериала;
- c) изолировании яда;
- d) выборе метода детоксикации;
- e) качественном и количественном анализе биоматериала.

## V II. Лабораторно-практическое занятие «Потенциометрическое определение значений pH и редокс-потенциалов модельных биологических сред (кровь, моча)»

Подготовьте ответ по индивидуальной карточке заданий для участия в семинаре, используя вспомогательный материал

Образ  
индив

1. П  
влияю  
мулы,

2. С  
сти рас  
шиваю

3. С  
и спос  
ности.

4. С  
миров

5. С  
на фор

6. С  
свойст

7. Ч  
ях ее л

ганизм

8. С  
иона А

1/2 УС

прини  
динам

$|\Delta E| \geq$

9.  
кодеи

10.  
феноб

11.  
ампи

12.  
если р

13.  
pH мо





## Образцы задач, входящих в карточки индивидуального задания

1. Перечислите физико-химические параметры веществ, влияющие на их токсичность. Приведите необходимые формулы, поясните их применение.

2. Охарактеризуйте влияние на формирование токсичности растворимости и константы распределения между несмешивающимися жидкостями.

3. Опишите влияние кислотно-основных свойств веществ и способности их к диссоциации на формирование токсичности.

4. Охарактеризуйте влияние редокс-потенциалов на формирование токсичности.

5. Опишите влияние хелатообразующих свойств веществ на формирование токсичности.

6. Охарактеризуйте влияние поверхностно-активных свойств веществ на формирование токсичности.

7. Что такое избирательная токсичность, в каких случаях ее не бывает? Неспецифическое воздействие АФК на организм.

8. Определите возможность проявления токсических свойств иона  $\text{AsO}_4^{3-}$  ( $\text{AsO}_4^{3-} + 2\text{H}_2\text{O} + 2e^- \rightleftharpoons \text{AsO}_2^- + 4\text{OH}^-$  ( $E^0 = -0,71 \text{ В}$ )),  $1/2$  Убихинон  $\text{Q} + \text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Убихинон QH}_2$  ( $E^0 = +0,100 \text{ В}$ )), принимая во внимание, что в соответствии со II началом термодинамики редокс-процесс возможен при  $|\Delta G| \geq 10 \text{ кДж/моль}$  ( $|\Delta E| \geq 0,2 \text{ В}$ , где  $\Delta E = E_{\text{ox}}^0 - E_{\text{red}}^0$ ) (см. приложение 5.1).

9. Сравните степень адсорбции в кровь фенобарбитала и кодеина.

10. Определите соотношение ионной и молекулярной форм фенобарбитала и теофиллина в слюне (см. приложение 5.2).

11. Определите соотношение ионной и молекулярной форм ампициллина и атропина в моче (см. приложение 5.2).

12. Как изменится почечная экскреция фенобарбитала, если pH мочи изменится от 5,1 до 6,9?

13. Как изменится почечная экскреция аспирина, если pH мочи изменится от 7,1 до 4,9?





14. На основании закона действующих масс для равновесия и вытекающего из него уравнения Хендерсона-Хассельбаха выведите расчетную формулу для оценки степени ионизации токсиканта со слабоосновными свойствами при данном значении рН.

15. Определите долю токсичного соединения, которая всосется из двенадцатиперстной кишки (рН содержимого равно 7,0) в кровь (рН плазмы составляет 7,4), если это токсичное соединение является слабым основанием с  $pK_a = 6,0$ .

16. Определите в процентах часть токсичного соединения X, являющегося слабым основанием с  $pK_a = 8,4$ , которая не всосется из двенадцатиперстной кишки (рН содержимого равно 7,0) в кровь (рН плазмы составляет 7,4).

17. Как изменится транспорт фенобарбитала (слабая кислота с  $pK_a = 7,2$ ) из экстрацеллюлярной жидкости во внутриклеточную жидкость после внутривенного введения большому гидрокарбоната натрия?

18. Как изменится транспорт фенобарбитала (слабая кислота с  $pK_a = 7,2$ ) из экстрацеллюлярной жидкости во внутриклеточную жидкость после внутривенного введения большому хлорида аммония?

### Задания к экспериментальной части лабораторно-практического занятия

#### Задание 1

Измерьте рН нескольких проб биологической жидкости (моча). Найдите среднее значение по каждой пробе. Покажите соответствие/несоответствие полученных значений физиологической норме.

**Методика эксперимента:** в стакан с пробой биологической жидкости (моча) поместить электрод рН-метра, включить рН-метр. Провести измерение рН биологической жидкости. Занести полученный результат в таблицу 5.1. Повторить измерение еще два раза. Выключить рН-метр и поместить электрод в стакан с дистиллированной водой. Рассчитать среднее значение рН пробы. Повторить измерения для оставшихся четырех проб биологической жидкости.





Таблица 5.1

Результаты определения среднего значения пяти проб pH мочи, полученные от пациентов

№ п/п	Значение pH			pH <sub>ср</sub>	pH
	I	II	III		
1					
2					
3					
4					
5					

Интервал pH мочи — физиологическая норма (справочные данные): 4,8–7,2.

Сделать вывод о соответствии интервала определенных значений pH справочным данным. Следует также указать, у каких пациентов элиминация ниже перечисленных токсикантов будет наибольшей: фуросемид, метадон.

### Задание 2

Экспериментально определите  $pK_a$  токсиканта (методом потенциометрического титрования).

**Методика эксперимента:** в колбу поместить 10 мл исследуемой жидкости с предварительно измеренным значением pH (яд кислотной природы). Далее постепенно добавляя по 1 мл раствора щелочи, каждый раз отмечая значение pH, измеренного на pH-метре, до прекращения изменения pH. Результаты занести в таблицу 5.2.

Таблица 5.2

Результаты потенциометрического титрования остатков жидкости с места отравления

V (NaOH), мл	pH
--------------	----





Построить график зависимости значения pH от объема добавленной щелочи. Сделать вывод, в котором подтвердить природу яда (слабая кислота/слабое основание) с указанием значения  $pK_a$  и обоснованием необходимости подкисления/подщелачивания мочи для более полного выведения ксенобиотика. Следует также указать, у какого из пациентов (№ \_\_, pH \_\_) предыдущего задания элиминация токсиканта будет наибольшей.

### V III. Итоговый тест

#### Примеры вопросов итогового теста

1. Липофильность яда определяется по величине:

- a)  $K_d$  (константы диссоциации);
- b)  $K_p$  (коэффициента распределения);
- c)  $G$  (энергии Гиббса);
- d)  $E^0$  (редокс-потенциала);
- e)  $pK_a$  (отрицательного логарифма константы кислотности).

2. Найдите соответствия:

1. Степень диссоциации для кислот выражается формулой:	a) $100/(1 + 10^{(pK_a - pH)})$
2. Степень диссоциации для оснований выражается формулой:	b) $10/(1 + 100^{(pK_a - pH)})$
3. pH среды, при которой ионизация кислоты происходит на 99,9%, можно рассчитать по формуле:	c) $1 + 100^{(pK_a - pH)}/100$
4. pH среды, при которой ионизация основания происходит на 99,9%, можно рассчитать по формуле:	d) $2 - K_a$
	e) $2 + K_a$
	f) $pK_a + 2$
	g) $100/(1 + 10^{(pH - pK_a)})$
	h) $pK_a - 2$
	i) $100^{(pK_a - pH)}$

3. Как правило, наиболее токсичны вещества:

- a) хорошо растворимые в воде (гидрофильные);
- b) хорошо растворимые в липидах (липофильные);

- c) бы
- d) лег

4. Обр  
ческой ср

- a) сни
- b) уве
- c) сни
- d) уве

5. Вс  
ходит в

- a) НА
- b)  $A^-$ ;
- c) В;
- d) ВН

6. Вы  
жидкост

- a) НА
- b)  $A^-$ ;
- c) В;
- d) ВН

#### Литер

- 1. Ма
- 2. То
- Т.В. Пле
- С. 62-74.
- 3. Ал
- основы т
- 400 с.
- 4. Ер
- Биофизи
- вузов / П
- ла, 2005.





- c) быстро выводящиеся из организма;
- d) легко преодолевающие мембранный барьер клеток.

4. Образование малорастворимых соединений в биологической среде приводит к:

- a) снижению всасывания токсиканта;
- b) увеличению всасывания токсиканта;
- c) снижению токсичности;
- d) увеличению токсичности.

5. Всасывание токсических веществ из желудка происходит в виде:

- a)  $\text{HA}$ ;
- b)  $\text{A}^-$ ;
- c)  $\text{B}$ ;
- d)  $\text{BH}^+$ .

6. Выведение токсических веществ из организма с биожидкостями происходит в виде:

- a)  $\text{HA}$ ;
- b)  $\text{A}^-$ ;
- c)  $\text{B}$ ;
- d)  $\text{BH}^+$ .

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 62–74.
3. Альберт А. Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии / Пер. с англ. В 2-х т. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
4. Ершов Ю.А., Попков В.А., Берлянд А.С. и др. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов: Учебник для вузов / Под ред. Ю.А. Ершова. 5-е изд., стер. — М.: Высшая школа, 2005. — 560 с.: илл.



## ЗАНЯТИЕ 6

### ТОКСИКОКИНЕТИКА

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар «Основные понятия токсикокинетики».
- III. Лабораторная работа «Изучение скорости почечной диффузии салициловой кислоты через полупроницаемую мембрану (модель)».

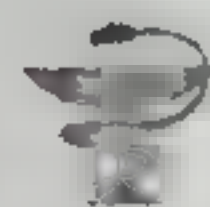
#### *Целевые задачи*

- изучить основные положения токсикокинетики;
- научиться применять основные понятия токсикокинетики: период полупревращения, константа элиминации, клиренс, объем распределения. Скорости адсорбции, биотрансформации, экскреции токсикантов;
- научиться описывать поведение токсиканта в организме с помощью кинетических кривых и кинетических уравнений;
- научиться оценивать токсичность ксенобиотика по его токсико-кинетическим характеристикам;
- научиться экспериментально определять скорость почечной экскреции ксенобиотиков (модельная система).

**При подготовке к занятию обратите внимание на следующие вопросы**

- 1) Дайте характеристику понятиям: «токсикокинетика», «токсико-кинетические параметры», «токсико-кинетические модели».





2) Охарактеризуйте одночастевую, двухчастевую и многочастевые токсико-кинетические модели.

3) Расшифруйте понятия: «степень связывания с белками», «биодоступность», «индекс биодоступности» для лекарственных средств. Существует ли аналогия с токсичными веществами?

4) Дайте определение понятию «объем распределения».

5) Дайте определение клиренса и периода полувыведения. Какова взаимосвязь клиренса токсиканта и объема его распределения?

6) Константа элиминации, ее определение из графика для кинетики первого порядка.

7) Уравнение токсикокинетики первого порядка. В каких случаях оно применимо? Период полувыведения токсиканта.

8) Объем распределения. Примерная оценка и расчет через AUC. Взаимосвязь объема распределения с дозой и концентрацией токсиканта.

## V Краткое теоретическое введение

**Токсикокинетика** (греч. *toxicon* — яд, *kinetikos* — движение) — наука, изучающая кинетические закономерности поступления, распределения, метаболизма (биотрансформации) и выведения токсичных веществ из организма.

Ряд ядовитых жирорастворимых соединений поступает в кровь уже в полости рта. На протяжении ЖКТ существуют значительные градиенты pH, определяющие различную скорость абсорбции токсичных веществ. На скорость абсорбции влияют интенсивность кровообращения в слизистой оболочке желудка, перистальтика, количество слизи и т.д.

Всасывание летучих соединений начинается уже в верхних дыхательных путях, но наиболее полно осуществляется в легких. При ингаляционных отравлениях яд быстро поступает в кровь. Это можно объяснить большой поверхностью всасывания легочных альвеол, малой толщиной альвеолярных мембран, интенсивным током крови по легочным ка-





пиллярам и отсутствием условий для депонирования токсикантов. Скорость поступления при этом определяется преимущественно физико-химическими свойствами токсиканта и в меньшей степени — состоянием организма (интенсивность дыхания и кровообращение в легких).

В общем случае скорость каждого из процессов, описанием которых занимается токсикокинетика, заключается в изучении скорости изменения во времени концентрации ксенобиотика. Наиболее доступный и информативный способ получения сведений об абсорбции, распределении, биотрансформации и экскреции ксенобиотика — анализ проб крови и мочи, отбираемых во времени. Затем исследователь строит *токсико-кинетическую кривую*, представляющую собой зависимость концентрации ксенобиотика в организме от времени (рис. 6.1).

Скорость процесса первого порядка возрастает прямо пропорционально концентрации и представляет собой изменение концентрации токсиканта в биоматериале в единицу времени (рис. 6.1):  $v = -dC_{\text{Ток}}/dt$  (моль/л·с). Начальную концентрацию

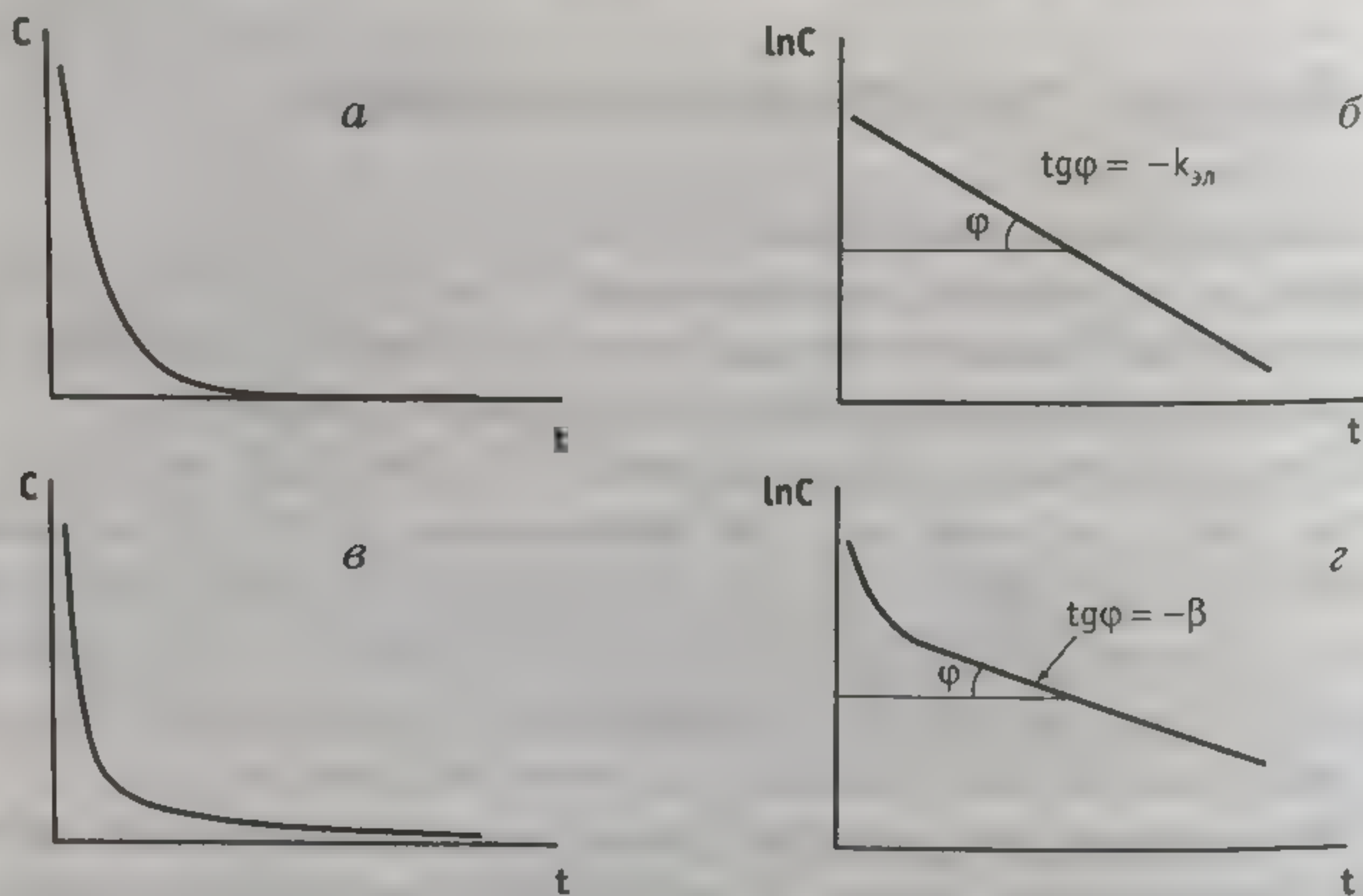


Рис. 6.1. Кривые концентрация — время для ксенобиотиков в однокамерной модели (а, б) и двухкамерной токсико-кинетической модели (в, г) в прямых (а, в) и полулогарифмических (б, г) координатах





ксенобиотика  $C_0$  при  $t=0$  можно определить экстраполяцией прямой для однокамерной модели на ось ординат.

Из кривых  $C-t$  и  $\lg C-t$  получают основные токсико-кинетические характеристики:  $C_{\max}$  — максимальная концентрация ксенобиотика в крови,  $t_{1/2}$  — период полувыведения ксенобиотика, константы скорости абсорбции и элиминации ксенобиотика.

Период полувыведения  $t_{1/2}$  — время, необходимое для снижения содержания ксенобиотика в крови наполовину. Период полувыведения зависит от объема распределения и от клиренса:

$$t_{1/2} = (0,693 \cdot V_d) / CL.$$

Период полувыведения можно рассчитать по формуле:

$$t_{1/2} = 0,693 / k_{\text{эл}}.$$

Константу элиминации определяют графически по тангенсу угла наклона прямой  $\lg C-t$  (см. занятие 7).

Объем распределения ксенобиотика  $V_d$  представляет собой величину, связывающую общее количество ксенобиотика в организме с концентрацией в плазме крови. Для однокамерной модели объем распределения можно выразить как

$$V_d = D_{\text{в/в}} / C_0.$$

Объем распределения имеет размерность литры или литры на килограмм массы тела, а его значения зависят от природы ксенобиотика и отражают его распределение в разных тканях организма.

При известных значениях объема распределения и константы скорости элиминации можно рассчитать клиренс:

$$CL = V_d \cdot k_{\text{эл}}.$$

Клиренс  $CL$  — скорость очищения крови от ксенобиотика в процессе его биотрансформации, перераспределения и выведения из организма. Клиренс определяется как объем крови, полностью освобождаемой от токсиканта за единицу времени. Общая эффективность удаления токсиканта из организма характеризуется общим клиренсом, который определяется как сумма клиренсов отдельных органов элиминации.





## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. *Токсикокинетика — это раздел токсикологической химии, изучающий:*

- a) элиминацию токсикантов;
- b) физические и химические свойства ксенобиотиков;
- c) кинетические закономерности поступления, распределение, метаболизм (биотрансформацию) и выведение токсических веществ;
- d) механизмы формирования токсических эффектов;
- e) поступление, метаболизм и элиминацию ядов;
- f) распределение ксенобиотиков в живом организме.

2. *Для описания токсико-кинетических процессов используют следующие математические методы и модели:*

- a) частевые (компарментные) модели;
- b) методы системного подхода;
- c) методы теории вероятности;
- d) модели физиологического (перфузионного) типа.

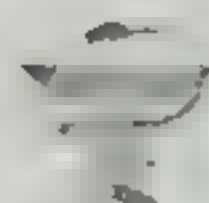
3. *В основе токсикокинетики лежат кинетические уравнения:*

- a) нулевого порядка;
- b) первого порядка;
- c) второго порядка;
- d) третьего порядка.

4. *Уравнения токсикокинетики первого порядка:*

- a)  $C_A = C_{A_0} \cdot e^{-kt}$ ;
- b)  $C_{A_0} = C_A \cdot e^{-kt}$ ;
- c)  $C_A = C_{A_0} \cdot e^{kt}$ ;
- d)  $\ln(C_A / C_{A_0}) = -kt$ .





5. Условный объем плазмы крови, который полностью очищается от данного вещества за единицу времени:

- a) объем распределения;
- b) клиренс;
- c) биодоступность;
- d) период полувыведения.

6. Скорость протекания токсико-кинетического процесса прямо пропорциональна концентрации изменения ксенобиотика при токсикокинетике:

- a) нулевого порядка;
- b) первого порядка;
- c) второго порядка.

7. Показатель попадания вещества в системный кровоток:

- a) объем распределения;
- b) клиренс;
- c) биодоступность;
- d) период полувыведения.

8. Время, необходимое для снижения наполовину вещества в организме в процессе элиминации:

- a) объем распределения;
- b) клиренс;
- c) биодоступность;
- d) период полувыведения.

9. Практически полное удаление токсичного вещества из организма достигается за:

- a)  $1t_{1/2}$ ;
- b)  $2t_{1/2}$ ;
- c)  $5t_{1/2}$ ;
- d)  $6t_{1/2}$ ;
- e)  $7t_{1/2}$ ;
- f)  $9t_{1/2}$ .





## 10. Найдите соответствия:

Токсико-кинетический показатель	Единица измерения
1. Клиренс	a) $\text{с}^{-1}$
2. Объем распределения	b) л
3. Константа элиминации	c) мл/с
4. Период полувыведения	d) %
5. Степень связывания с белками плазмы крови	e) ч

## V II. Семинар «Основные понятия токсикокинетики»

### Примеры задач для составления карточек индивидуального задания

1. Рассчитайте приблизительную величину объема плазмы крови (л) у человека массой тела 100 кг.

2. Определите максимальный объем распределения ксенобиотика, если он не выходит из кровеносного русла, не связывается с белками плазмы крови и не депонируется?

3. Определите биодоступность токсиканта X, доза которого составила 1,0 г. Известно, что токсикант распределяется по всей жидкой фазе организма и концентрация его в плазме крови равна 0,012 г/л.

4. Какова биодоступность токсиканта X, доза которого составила 0,5 г, если известно, что концентрация его в плазме крови составила 0,1 мг/мл? Токсикант распределяется только в плазме крови и не депонируется.

5. Вычислите объем распределения сердечного гликозида, если известно, что через 10 мин после внутривенного введения 1 ампулы, содержащей 1 мл 0,05% -ного р-ра дигитоксина, концентрация его в плазме крови равна 35,7 нг/мл.

6. Вычислите объем распределения тиопентала, если известно, что он распределяется равномерно по всей водной фазе организма и депонируется в жировой ткани. Коэффициент распределения масло/вода равен 10.





7. Для борьбы с отравлением снотворным препаратом ноксироном используется форсированный диурез. Для этого вводят мочегонное средство фуросемид. При этом количество выделяемой за сутки мочи возрастает с 1,5 до 7 л. В обычных условиях общий клиренс ноксирона 50 мл/мин, из него на долю печеночного клиренса приходится 30%. Вычислите почечный клиренс при форсировании диуреза.

8. Для борьбы с отравлением наркотическим веществом морфином у наркоманов можно использовать промывание желудка кислыми растворами, имеющими  $pH = 1,0$ , даже при парентеральном введении наркотика. Рассчитайте количество молекул морфина, которое удастся удалить из организма при таком способе детоксикации. Для этого используйте следующие данные: морфин является слабым основанием с  $pK_a = 8,4$ ; общее количество наркотика, введенного в кровь, — 0,1 г; число Авогадро равно  $6,02 \cdot 10^{23}$ .

9. В какой форме абсорбция барбитуратов из ЖКТ будет выше: в виде натриевой соли в желатиновых капсулах или в виде слабой кислоты (полученной кристаллизацией из органического растворителя) тоже в желатиновых капсулах?

10. После приема снотворного средства в дозе 0,05 г сон длится 8 ч. Препарат проникает через гематоэнцефалический барьер, имеет значение объема распределения 5 л и период полувыведения 2 ч. Определите минимально действующую концентрацию этого препарата.

### V III. Лабораторная работа

#### «Изучение скорости почечной диффузии салициловой кислоты через полупроницаемую мембрану (модель)»

Для изучения скорости диффузии салициловой кислоты через полупроницаемую мембрану (модель стенки почек) собирается установка, включающая стеклянную трубку большого диаметра, с одного конца покрытую полупроницаемой мембраной, широкий химический стакан или эксикатор (рис. 6.2).



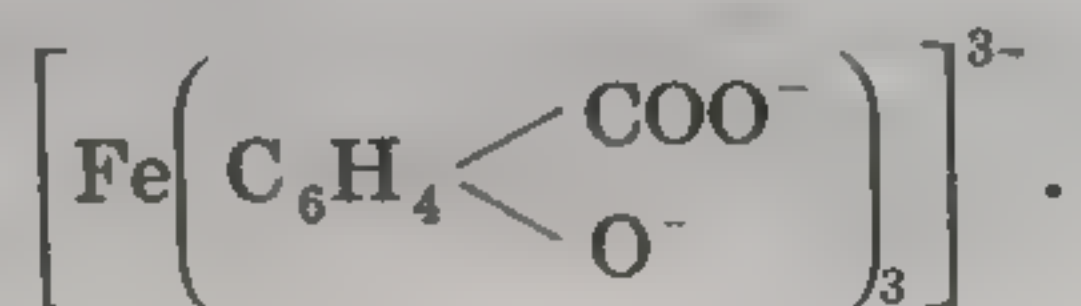


Рис. 6.2. Схема установки для изучения токсико-кинетических параметров

Трубку заполняют раствором салициловой кислоты (кровь) и концом, покрытым полупроницаемой мембраной, погружают в раствор с дистиллированной водой (моча).

Через один час отбирают первую пробу раствора из внешнего сосуда (моча) — раствор № 1. Далее пробы отбирают через каждый час, получая соответственно растворы № 2-4.

К 5 мл каждой пробы добавляют по 0,2 мл подкисленного до pH 2,0 0,1 моль/л р-ра хлорида железа (III). При этом образуются комплексные ионы фиолетового цвета



Далее определяют концентрацию раствора салициловой кислоты фотоколориметрическим методом (длина волны  $\lambda = 380-430$  нм) по предварительно построенному калибровочному графику (рис. 6.3).

По результатам эксперимента строят графики в координатах  $\ln c - t$  (рис. 6.4) и рассчитывают токсико-кинетические параметры: константу элиминации ( $k_{\text{эл}}$ ) и период полувыведения ( $t_{1/2}$ ).

Сделайте вывод о скорости элиминации салициловой кислоты из модельной системы «кровь-почка-моча».

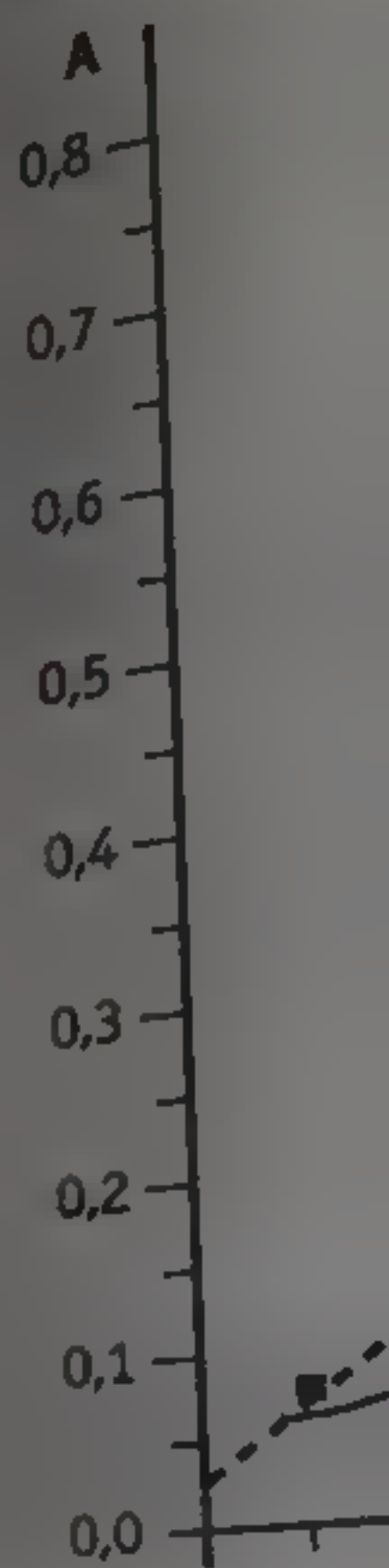


Рис. 6.3

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикология. Т.В. Плещинский. С. 125-144.
3. Токсикология. Ко Н.В. —



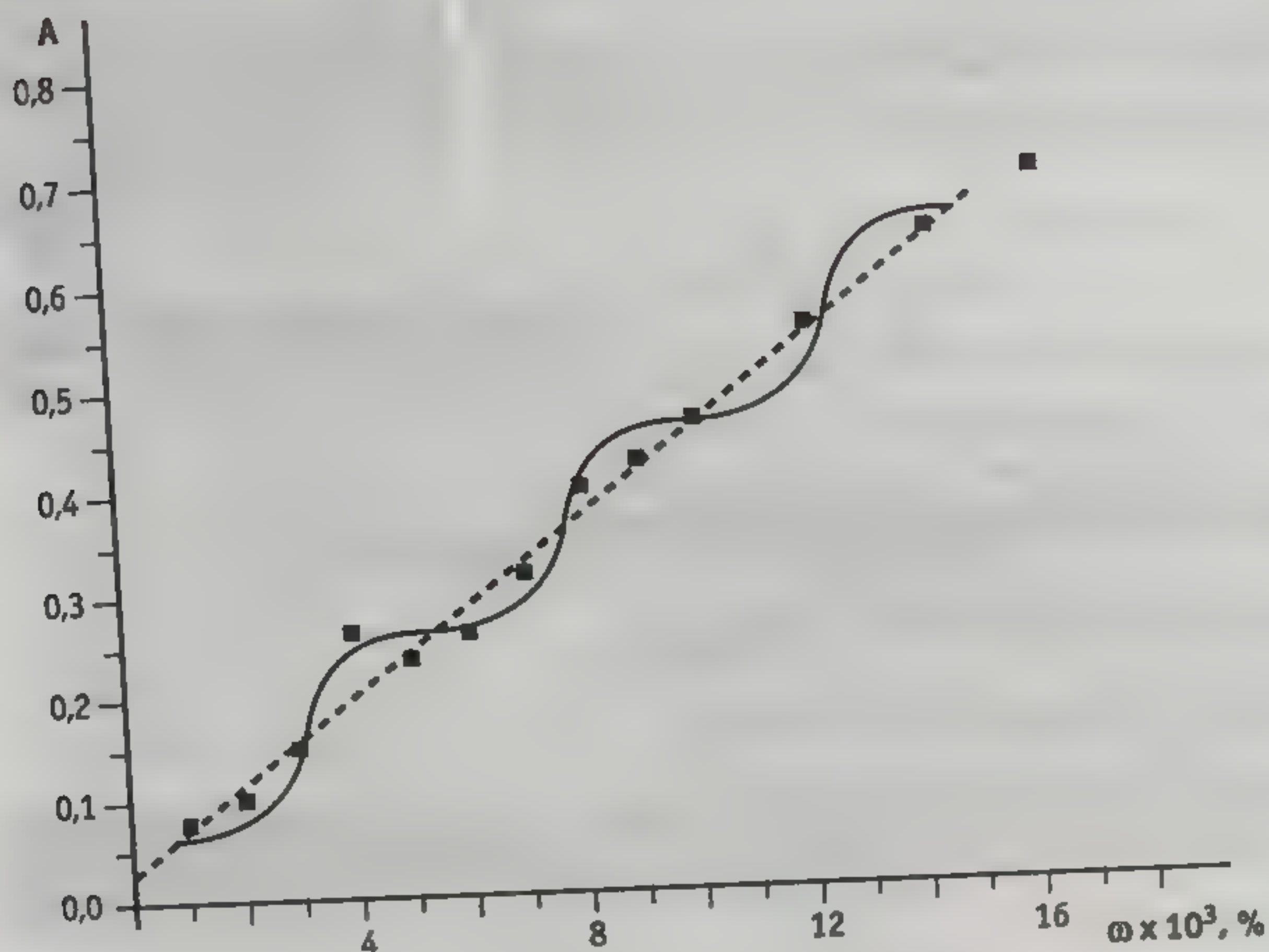


Рис. 6.3. Калибровочный график для определения концентраций салициловой кислоты

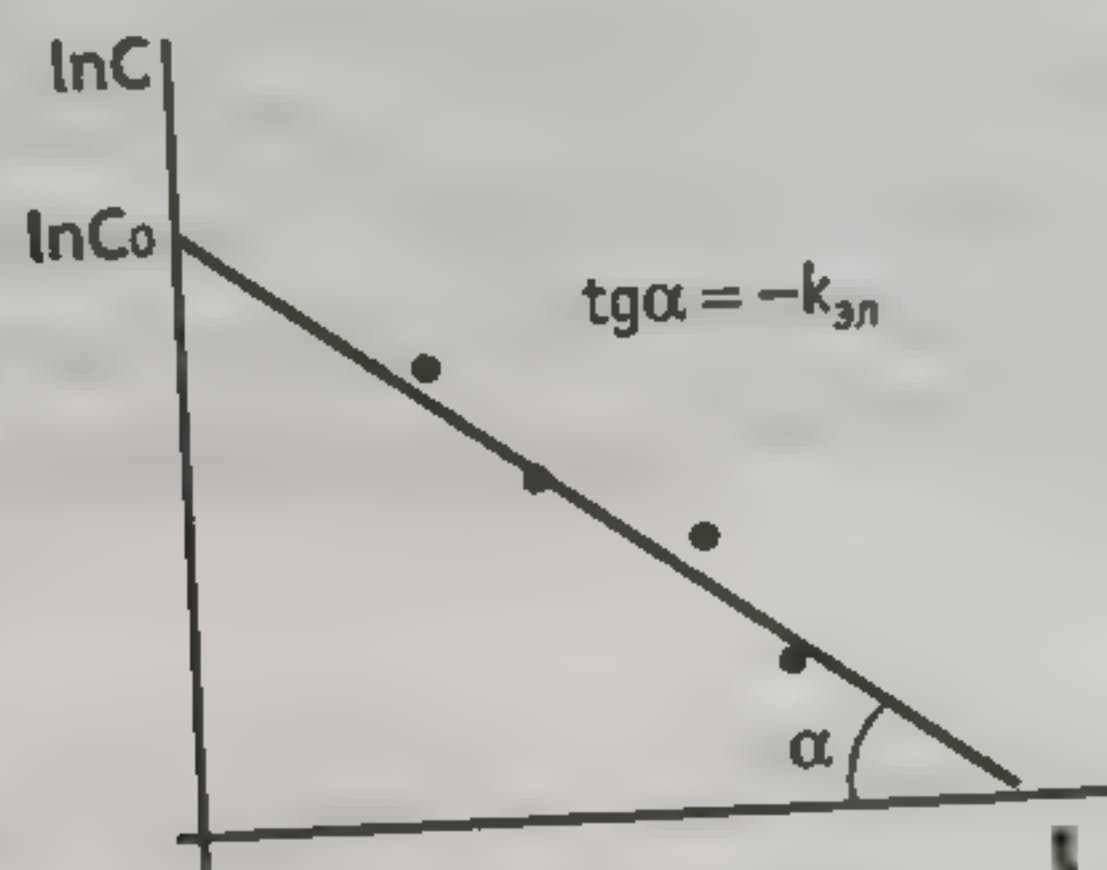


Рис. 6.4. Определение параметров исследуемой токсико-кинетической модели

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 125–144.
3. Токсикология в таблицах и схемах / Келина Н.Ю., Безручко Н.В. — Ростов-н/Д.: Феникс, 2006. — 142 с.



## ЗАНЯТИЕ

# 7

### ТОКСИКО-КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КСЕНОБИОТИКОВ. ТОКСИКОКИНЕТИКА НАСЫЩЕНИЯ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторно-практическое занятие «Кинетические характеристики токсикантов различной химической природы. Количественная оценка токсичности циклоспорина по токсико-кинетическим параметрам общеклинических и биохимических показателей крови».
- III. Итоговый тест.

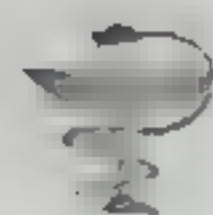
#### *Целевые задачи*

- освоить метод количественной оценки токсичности некоторых ксенобиотиков по токсико-кинетическим параметрам общеклинических и биохимических показателей крови;
- изучить процесс токсикокинетики ферментативных процессов.

#### *Краткое теоретическое введение*

При значительном увеличении дозы ксенобиотика скорость его распределения или элиминации может изменяться в соответствии с кинетикой насыщения. В этих случаях в





токсико-кинетических моделях насыщения используется уравнение Михаэлиса—Ментена, включающее два параметра ( $v_{\max}$  и  $K_M$ ):

$$v = (v_{\max} \cdot C_{\text{своб}}) / (K_M + C_{\text{своб}}),$$

где  $v_{\max}$  — максимальная скорость распределения или элиминации;

$K_M$  — постоянная Михаэлиса, или концентрация ксенобиотика при скорости, равной половине максимальной;

$C_{\text{своб}}$  — концентрация свободного (не связанного с белками или другими рецепторами) ксенобиотика.

При концентрации ксенобиотика в организме, большей  $K_M$ , скорости распределения и элиминации перестают быть пропорциональны дозе. Превращения ксенобиотиков, соответствующие кинетике насыщения, подчиняются закономерностям процессов нулевого порядка:

$$v = dC/dt = k_0 C^0 = k_0.$$

Таким образом, в этом случае скорость процессов не зависит от концентрации, т.е. представляет собой постоянную величину. При больших концентрациях ксенобиотика (субстрата) практически все молекулы фермента связаны в комплекс. Поэтому дальнейшее увеличение концентрации субстрата практически не увеличивает концентрации комплексов, и, следовательно, скорость реакции остается постоянной.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. Токсикокинетика насыщения описывает скорость элиминации ксенобиотика при значительном увеличении его содержания в организме в соответствии с уравнением Михаэлиса—Ментена:

a)  $v = k_0 C^0 = k_0$ ;

b)  $t_{1/2} = (0,693 \cdot V_d) / Cl$ ;





c)  $V_d = D_{в/в} (\beta \cdot AUC_0^\infty)$ ;

d)  $v = (v_{\max} \cdot C_{\text{своб}}) / (K_M + C_{\text{своб}})$ .

2. В уравнении Михаэлиса—Ментена  $v_{\max}$  представляет собой:

- a) максимальный объем распределения ксенобиотика в организме;
- b) максимальное содержание свободного (не связанного с белками или другими рецепторами) ксенобиотика;
- c) максимальную скорость элиминации/распределения;
- d) максимальное содержание ксенобиотика при скорости, равной половине максимальной скорости.

3. Для процессов, подчиняющихся кинетике насыщения, скорость не зависит от концентрации и описывается уравнением:

a)  $V_d = D_{в/в} / C_0$ ;

b)  $dC/dt = k_0 C^0 = k_0$ ;

c)  $V_d = D_{в/в} (\beta \cdot AUC_0^\infty)$ ;

d)  $v = (v_{\max} \cdot C_{\text{своб}}) / (K_M + C_{\text{своб}})$ .

4. Признаки нелинейной токсикокинетики (кинетики насыщения) в отличие от токсикокинетики первого порядка:

- a) отсутствие экспоненциального снижения уровня токсиканта в организме;
- b) площадь под токсико-кинетической кривой  $AUC_0$  не пропорциональна дозе;
- c) значения  $V_d$ ,  $Cl$ ,  $k_{\text{эл}}$  (или  $\beta$ ),  $t_{1/2}$  не изменяются с увеличением дозы;
- d) кривые «доза-ответ» отражают непропорциональные изменения ответа при увеличении дозы, начиная с доз, при которых становятся очевидны эффекты насыщения.

5. Биодоступность ксенобиотика — это:

- a) степень абсорбции (всасывания) ксенобиотика в кровь при внесосудистом способе введения относительно внутривенного введения;

b)  $F = [AUC_{вв}/D_{вв}] \cdot [D_{в/в}/AUC_{в/в}]$ ;

c)  $F = [AUC_{в/в}/D_{в/в}] \cdot [AUC_{вв}/D_{вв}]$ ;

d)  $F = [AUC_{в/в}/D_{вв}] \cdot [D_{в/в}/AUC_{вв}]$ .



6. На величину биодоступности влияют:

- a) ограниченное всасывание ксенобиотика при пероральном приеме;
- b) эффект первого прохождения через кишечник;
- c) эффект первого прохождения через печень;
- d) химическая природа вещества.

7. Полное всасывание ксенобиотика в системный кровоток соответствует:

- |                  |              |
|------------------|--------------|
| a) $0 < F < 1$ ; | c) $F = 1$ ; |
| b) $F > 1$ ;     | d) $F < 1$ . |

## V II. Лабораторно-практическое занятие «Кинетические характеристики токсикантов различной химической природы. Количественная оценка токсичности циклоспорина по токсико-кинетическим параметрам общеклинических и биохимических показателей крови»

Образцы задач, входящих в карточки  
индивидуального задания

1. У мужчины средних лет, поступившего в клинику после отравления недоброкачественным напитком, содержащим растворимые соли ртути, содержание ртути в моче изменялось следующим образом:

Время, дни	C, мкг/л	Задание
1	0	Построить кинетические кривые $C-t$ , $\lg C-t$ и оценить скорость элиминации токсичного элемента по одночастевой токсико-кинетической модели.
2	2	
3	8	
4	10	
10	12	





Продолжение табл.

Время, дни	C, мкг/л	Задание
15	13	Чему равно время полу-выведения токсичного вещества из организма?
18	25	
20	60	
21	100	
22	150	
30	300	

2. У женщины, поступившей в клинику после отравления хлордиазепоксидом, содержание токсиканта в моче изменялось следующим образом:

Время, дни	C, мкг/л	Задание
0,1	0,0025	Построить кинетические кривые C-t, lgC-t и оценить скорость элиминации токсичного элемента по одночастевой токсико-кинетической модели. Чему равно время полу-выведения токсичного вещества из организма?
0,5	0,12	
1	0,25	
1,5	0,5	
2	1,0	
4	2,0	
8	3,0	
12	60	
24	100	
36	150	
48	300	

3. У ребенка, поступившего в клинику после отравления димедролом, содержание токсиканта в крови изменялось следующим образом:

Время, дни	C, мкг/л	Задание
0,1	300	Построить кинетические кривые C-t, lgC-t и оценить скорость элиминации токсичного элемента по одночастевой
0,5	150	
1	100	
1,5	60	





Продолжение табл.

Время, дни	C, мкг/л	Задание
2	3	токсико-кинетической модели. Чему равно время полувыведения токсичного вещества из организма?
4	2	
8	1	
12	0,5	
24	0,25	
36	0,12	
48	0,0025	

4. Элиминация этанола происходит по кинетике насыщения (кинетике нулевого порядка). Определите период полувыведения этанола из организма, если его концентрация в крови изменялась следующим образом:

Время, мин	C, ммоль/кг
60	18
90	16
120	14

5. Содержание диазепама в крови мужчины 48 лет после перорального однократного приема препарата значительно превышает терапевтическую концентрацию 105 ммоль/л и составляет 1050 ммоль/л. Изменение токсиканта в крови происходило следующим образом:

Время, ч	LgC	Задание
1	1,5	Построить кинетические кривые C-t, lgC-t и оценить скорость элиминации токсичного элемента по одноставной токсико-кинетической модели. Чему равно время полувыведения токсичного вещества из организма?
2	1,0	
3	0,72	
4	0,21	
5	0,10	





## Фармакокинетический контроль безопасности циклоспорина (мониторинг биохимических и общеклинических показателей)

Наиболее опасным побочным эффектом препаратов на основе циклоспорина является *нефротоксический эффект*, который приобретает особую значимость у больных после трансплантации почки.

Для выявления нефротоксического эффекта использовали показатели содержания *мочевины и креатинина* в сыворотке крови (рис. 7.1, табл. 7.1).

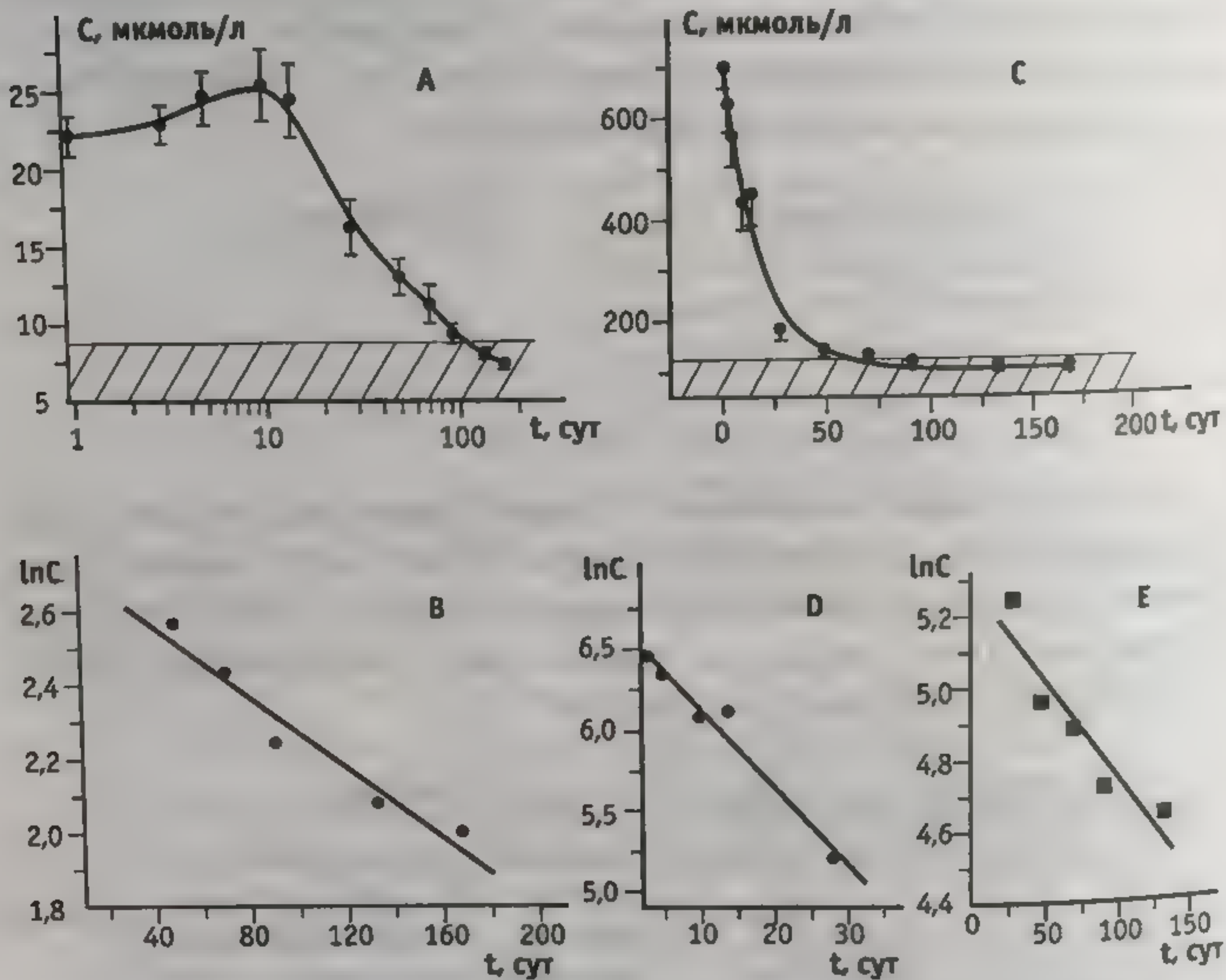


Рис. 7.1. Кинетика содержания мочевины (A, B) и креатинина (C, D, E) в сыворотке крови при приеме препарата консупрен после аллогенной трансплантации почки (заштрихованная область — физиологическая норма)



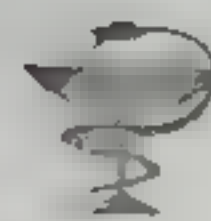
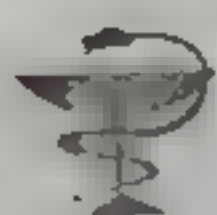


Таблица 7.1

Биохимические и общеклинические показатели крови  
в течение 6 месяцев после аллогенной трансплантации крови

Показатель ( $M \pm m$ , $n = 26$ )	Время отбора пробы крови, нед.			
	2	7	19	24
<i>Биохимические показатели крови</i>				
Креатинин, мкмоль/л	454,6 $\pm$ 63,63	142,6 $\pm$ 12,51	103,4 $\pm$ 4,95	102 $\pm$ 5,11
Мочевина, мм	24,43 $\pm$ 2,32	13,03 $\pm$ 1,16	8,01 $\pm$ 0,36	7,37 $\pm$ 0,33
Билирубин (общ.), мкмоль/л	9,17 $\pm$ 0,87	9,77 $\pm$ 0,97	14,69 $\pm$ 0,71	16,53 $\pm$ 0,71
Общий бе- лок, г/л	61,42 $\pm$ 1,05	65,3 $\pm$ 0,95	68,36 $\pm$ 0,75	69,66 $\pm$ 0,73
Глюкоза, мм	6,78 $\pm$ 0,55	6,51 $\pm$ 0,48	7,29 $\pm$ 0,65	6,88 $\pm$ 0,49
Холестерин, мм	6,2 $\pm$ 0,24	6,44 $\pm$ 0,21	7,01 $\pm$ 0,26	7,39 $\pm$ 0,31
Триглице- риды, мм	1,8 $\pm$ 0,11	2,01 $\pm$ 0,16	2,62 $\pm$ 0,18	2,92 $\pm$ 0,19
Калий, мм	4,86 $\pm$ 0,13	4,87 $\pm$ 0,14	4,72 $\pm$ 0,13	4,69 $\pm$ 0,11
Натрий, мм	139 $\pm$ 0,86	140,9 $\pm$ 0,77	141,2 $\pm$ 0,61	142,2 $\pm$ 0,58
<i>Ферменты сыворотки</i>				
АСТ, МЕ/л	28,27 $\pm$ 3,46	27,58 $\pm$ 4,11	27,15 $\pm$ 2,32	26,73 $\pm$ 2,03
АЛТ, МЕ/л	29,65 $\pm$ 6,4	34 $\pm$ 10,01	30,65 $\pm$ 3,83	31,65 $\pm$ 3,75
ЩФ, МЕ/л	202,2 $\pm$ 27,32	179 $\pm$ 18,73	177 $\pm$ 12,52	170,3 $\pm$ 8,79
<i>Общий анализ крови</i>				
Гематокрит, %	27,62 $\pm$ 0,97	31,08 $\pm$ 0,89	36,54 $\pm$ 0,81	39,12 $\pm$ 0,72
Гемоглобин, г/л	90 $\pm$ 2,87	103,3 $\pm$ 3,26	125,8 $\pm$ 2,86	132,2 $\pm$ 2,44
Эритроци- ты, $10^{12}$ /л	3,06 $\pm$ 0,09	3,52 $\pm$ 0,11	4,27 $\pm$ 0,09	4,55 $\pm$ 0,09





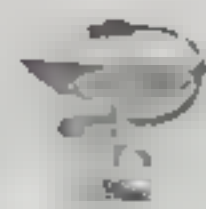
Продолжение табл. 7.1

Показатель ( $M \pm m$ , $n = 26$ )	Время отбора пробы крови, нед.			
	2	7	19	24
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	$297,3 \pm 19$	$237,3 \pm 14,64$	$246,1 \pm 13,79$	$246,6 \pm 12,33$
Лейкоцитарная формула				
Лейкоциты (общ.), $10^9/\text{л}$	$13,55 \pm 0,94$	$8,01 \pm 0,59$	$7,75 \pm 0,55$	$7,37 \pm 0,53$
Нейтрофилы, %	$81,54 \pm 1,54$	$72,54 \pm 2,15$	$65,92 \pm 2,02$	$62,19 \pm 2,51$
Лимфоциты, %	$12,73 \pm 1,28$	$19,58 \pm 1,77$	$24 \pm 1,77$	$24,65 \pm 2,04$
Моноциты, %	$5,76 \pm 0,46$	$8,19 \pm 0,83$	$10,96 \pm 1,19$	$12,65 \pm 1,07$
Базофилы, %	$0,16 \pm 0,06$	$0,27 \pm 0,13$	$0,27 \pm 0,11$	$0,35 \pm 0,11$
Эозинофилы, %	$0,88 \pm 0,29$	$1,62 \pm 0,33$	$1,85 \pm 0,24$	$2,23 \pm 0,28$

Кинетика восстановления концентрации мочевины до физиологической нормы в крови имеет сложный характер (см. рис. 7.1). Наблюдается выраженный максимум, соответствующий первым 10–12 сут после операции. Нисходящая ветвь кинетической кривой, следующая за экстремальной точкой, после седьмой недели наблюдения соответствует уравнению первого порядка (прямая в полулогарифмических координатах). Таким образом, восстановление концентрации мочевины в крови завершается наполовину до физиологической нормы примерно за три месяца. Действительно, этот показатель стабилизировался к шестому месяцу после операции у 70% пациентов.

Для креатинина кинетическая картина совсем иная (см. рис. 7.1) и характеризуется наличием двух фаз. Кинетика первой (быстрой) и второй (медленной) подчиняется уравнению первого порядка. Результаты анализа кинетического уравнения прямой в полулогарифмических координатах для быстрой фазы свидетельствуют о высокой скорости процесса восстановления физиологической нормы:





$$k = (4,83 \pm 0,416) \cdot 10^{-2} \text{ сут}^{-1}.$$

Таким образом, при единичной концентрации креатинина в крови (1 мкмоль/л) скорость достижения значений, соответствующих нормальному физиологическому уровню, составляет в среднем  $4,83 \cdot 10^{-2}$  мкмоль/л · сут. Кинетическое уравнение, описывающее процесс стабилизации содержания креатинина в крови на быстрой стадии, с учетом  $C_0 = 743,6$  мкмоль/л имеет вид:

$$C = 743,6 \cdot e^{-0,0483t}.$$

Среднее значение полупериода достижения значений физиологической нормы по креатинину равно:

$$t_{1/2} = 0,693 / (4,83 \cdot 10^{-2}) = 14,4 \text{ сут},$$

т.е. процесс стабилизации должен завершиться наполовину примерно за 2 недели. Действительно, через 6 мес. у всех больных содержание креатинина в крови находилось в пределах физиологической нормы. Необходимо, однако, отметить, что концентрация креатинина в крови уже через 50 сут в среднем составляет  $(66,4 \pm 3,46)$  мкмоль/л. Более низкое по сравнению с ожидаемым значение, очевидно, объясняется включением в механизмы стабилизации второй, медленной фазы.

Одним из важных критериев безопасности препарата является оценка его *гепатотоксического эффекта*. Возможное побочное действие консупрена контролировали, определяя содержание ферментов АСТ и АЛТ в сыворотке крови больных (см. табл. 7.1). Было установлено, что среднее содержание АСТ и АЛТ в сыворотке крови больных на протяжении шести месяцев оставалось примерно одинаковым и не выходило за пределы физиологической нормы (11–47 МЕ/л и 67–53 МЕ/л соответственно). К шестому месяцу среднее содержание АСТ в сыворотке крови больных составляло  $(26,73 \pm 2,03)$  МЕ/л, а АЛТ  $(31,65 \pm 3,75)$  МЕ/л. Только у 11,5% пациентов содержание фермента АЛТ в сыворотке крови превышало норму. Доля больных с повышенным содержанием фермента АЛТ составила 7,7%.





Смерть от сердечно-сосудистых заболеваний стоит на первом месте у больных после трансплантации почки. Наблюдение за показателями липидного обмена имеет особенно большое значение, т. к. своевременное проведение коррекции гиперлипидемии поможет увеличить продолжительность жизни больных после трансплантации и уменьшить риск развития осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. Влияние препарата консупрен на показатели липидного обмена контролировали путем измерения содержания холестерина и триглицеридов в сыворотке крови (рис. 7.2).

При мониторинге показателей холестерина и триглицеридов было установлено, что к четвертой неделе после АТП доля больных с повышенным содержанием холестерина ( $6,44 \pm 0,24$ ) ммоль/л в сыворотке крови составляла 77%, а доля больных с гипертриглицеридемией ( $1,99 \pm 0,16$ ) ммоль/л — 34,6%. К шестому месяцу значения этих показателей еще больше возросли и у 92,3% больных составляли ( $7,39 \pm 0,31$ ) и ( $2,92 \pm 0,19$ ) ммоль/л соответственно.

Опасным побочным эффектом препаратов на основе циклоспорина является развитие посттрансплантационного сахарного диабета. У 15% больных на фоне приема консупрена в течение первых шести месяцев после операции возникает стойкая гипергликемия (табл. 7.1). При этом на протяжении

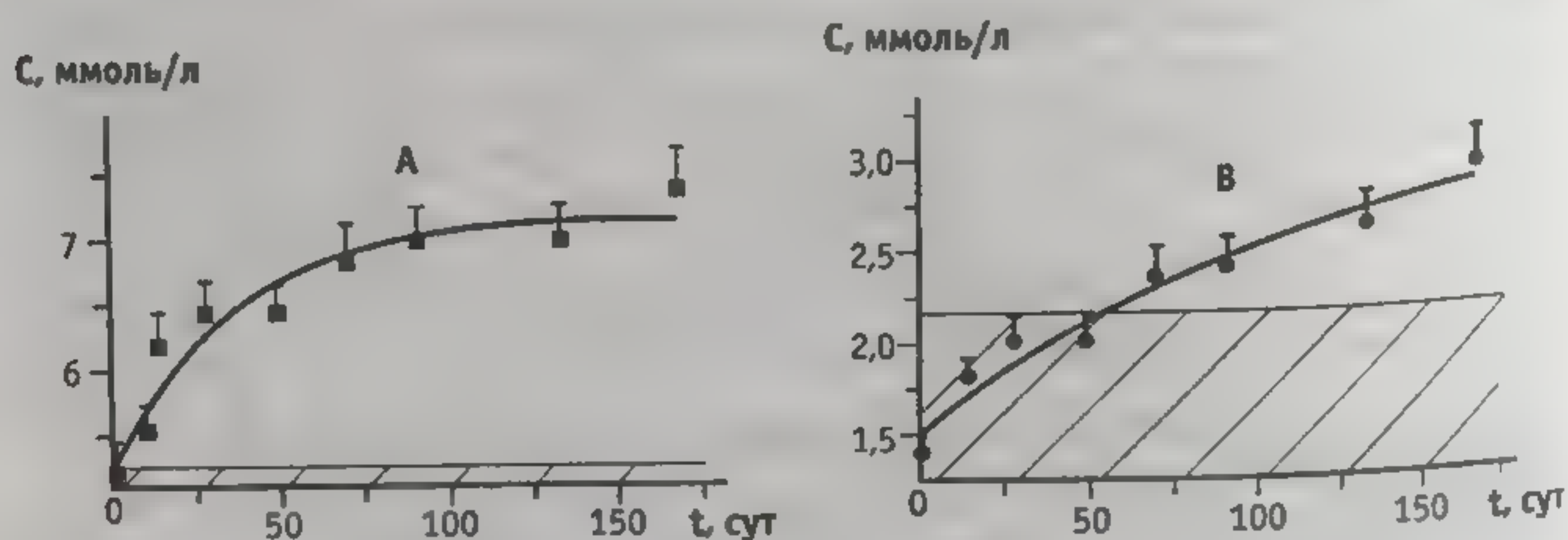


Рис. 7.2. Кинетика содержания холестерина (А) и триглицеридов (В) у пациентов после аллогенной трансплантации почки на фоне приема консупрена (заштрихованная область — физиологическая норма)





всего срока наблюдения отмечали повышенное среднее содержание глюкозы в крови пациентов на 14 день после трансплантации ( $6,78 \pm 0,55$ ) ммоль/л, к шестому месяцу (168 день) — ( $6,88 \pm 0,49$ ) ммоль/л, при норме (3,58–6,05) ммоль/л.

Общеклиническое исследование крови является одним из важных диагностических методов, тонко отражающим реакцию кроветворных органов на воздействие различных факторов. К шестому месяцу после трансплантации при лечении препаратом консупрен была отмечена полная стабилизация количества нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов; доля больных, у которых произошло восстановление гемоглобина и эритроцитов, составила 92,3%, снижение количества лейкоцитов до нормы наблюдали у 77%. Оценка кинетических параметров этих показателей свидетельствует об их взаимно-однозначных соответствиях (рис. 7.3), что четко прослеживается на кинетических кривых через 10–12 сут после операции. При этом независимо от предшествующих изменений гематокрит, гемоглобин, эритроциты, моноциты, лимфоциты начинают возрастать, а число лейкоцитов и нейтрофилов снижается.

Как пример рассмотрим изменение кинетических параметров гемоглобина. Константа скорости процесса восстановления нормального содержания гемоглобина равна:

$$k = (2,3 \pm 0,14) \cdot 10^{-3} \text{ сут}^{-1}.$$

Полупериод этого процесса равен примерно 10 месяцам:

$$t_{1/2} = 0,693 / (2,3 \cdot 10^{-3}) = 301 \text{ сут}.$$

Из значения  $t_{1/2}$  следует, что процесс восстановления физиологической нормы гемоглобина наполовину завершится менее чем за один год (за 0,83 года). Действительно, из имеющихся в нашем распоряжении результатов следует, что уже к шестому месяцу содержание гемоглобина достигало низших показателей нормы у 80% пациентов.

Найденные кинетические параметры для целого ряда биохимических показателей токсичности в условиях приема препарата на основе циклоспорина после АТП могут быть ис-



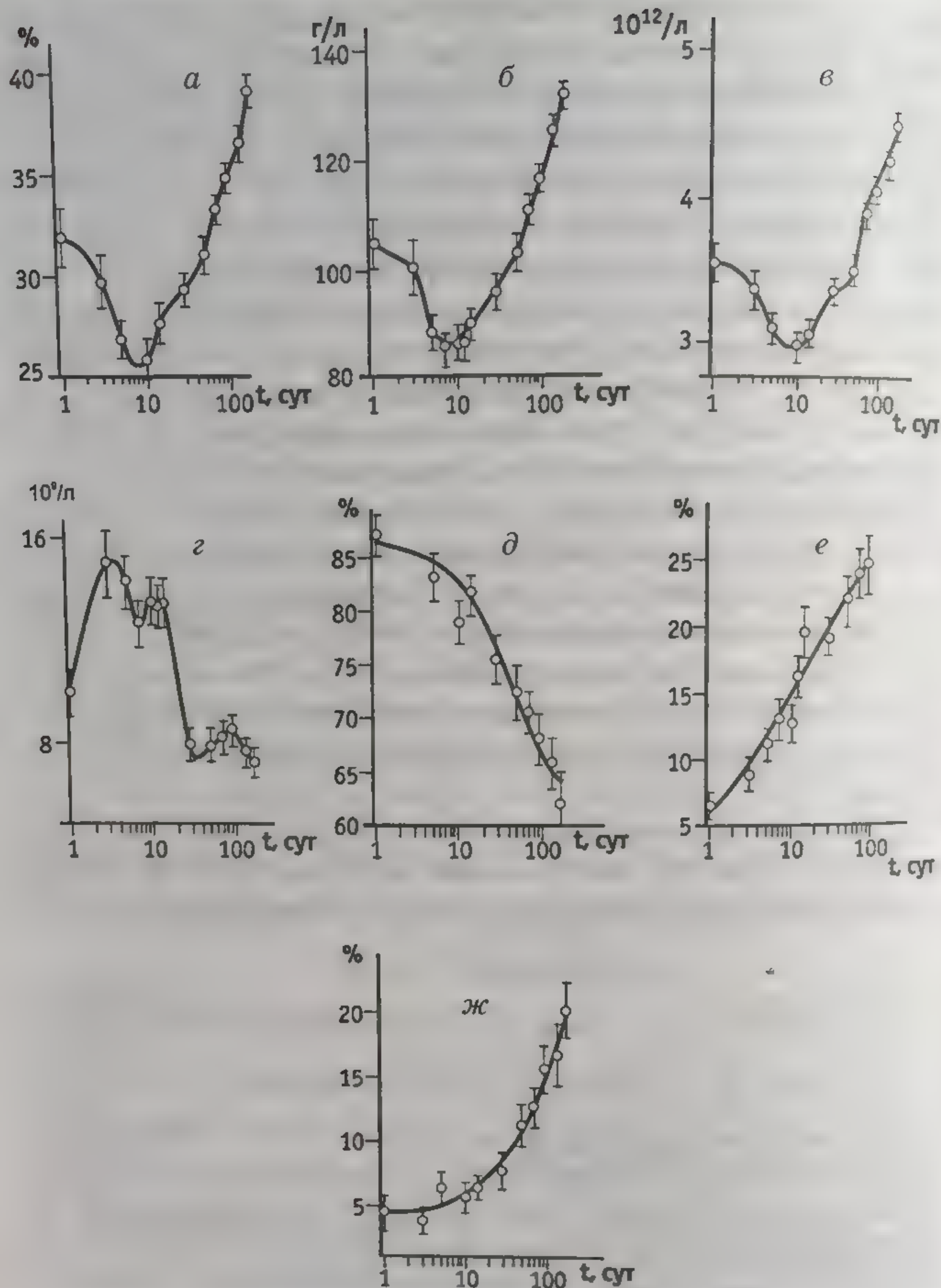
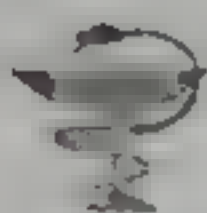


Рис. 7.3. Кинетика изменения общеклинических показателей крови при приеме консупрена после аллогенной трансплантации почки:  
а — гематокрит; б — гемоглобин; в — эритроциты; г — лейкоциты;  
д — нейтрофилы; е — лимфоциты; ж — моноциты

пользованы  
тологамн. И  
мента време  
жание тех и  
крови, прог  
значений ф  
цию дозиро

## V III. Ит

### Примеры

1. Для а  
ме, сыворот

- а) одноч
- б) двуча
- с) много

2. Для а  
фузируем

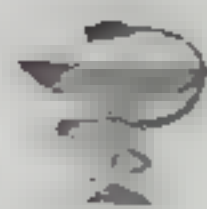
- а) одноч
- б) двуча
- с) много

3. Конс  
графику lg

- а) танге
- б) синус
- с) косин
- д) граду
- е) перио

- личн
- ф) клир
- форм
- г) объе
- личн





пользованы в будущем практическими врачами-трансплантологами. Используемые подходы позволят для любого момента времени на послеоперационном этапе оценить содержание тех или иных биохимических маркеров токсичности в крови, прогнозировать временные интервалы достижения значений физиологической нормы и осуществлять коррекцию дозирования препаратов на основе циклоспорина.

## V III. Итоговый тест

### Примеры вопросов итогового теста

1. Для анализа концентрации токсиканта в крови, плазме, сыворотке, ликворе и моче используют:

- а) одночастевую токсико-кинетическую модель;
- б) двучастевую токсико-кинетическую модель;
- в) многочастевую токсико-кинетическую модель.

2. Для анализа концентрации токсиканта в плохо перфузируемых органах используют:

- а) одночастевую токсико-кинетическую модель;
- б) двучастевую токсико-кинетическую модель;
- в) многочастевую токсико-кинетическую модель.

3. Константу элиминации вещества можно найти по графику  $\lg C$  — время, определив:

- а) тангенс угла наклона графика;
- б) синус угла наклона графика;
- в) косинус угла наклона графика;
- г) градусную величину угла наклона графика;
- д) период полувыведения вещества, а затем рассчитав величину  $K_{эл}$  по формуле;
- е) клиренс вещества, а затем рассчитав величину  $K_{эл}$  по формуле;
- ж) объем распределения вещества, а затем рассчитав величину  $K_{эл}$  по формуле.





4. Рассчитайте константу элиминации токсиканта А, если известно, что период его полувыведения соответствует 3 ч и подчиняется кинетике первого порядка:

a) 0,56;	d) 0,21;
b) 0,23;	e) 0,023;
c) 0,53;	f) 0,055.

5. Рассчитайте максимальную концентрацию в плазме принятого яда изопропанола по дозе 650 мг и объему распределения — 0,6 л/кг для больного массой 60 кг.

6. Рассчитайте константу скорости элиминации трамала из крови в мочу, если период полувыведения его равен 6 ч. Считать, что механизм элиминации соответствует одночастевой модели.

7. Рассчитайте максимальную концентрацию в плазме принятого яда этанола по дозе 570 г и объему распределения — 0,6 л/кг для больного массой 30 кг.

8. Рассчитайте максимальную концентрацию в плазме принятого яда галоперидола по дозе 150 мг и объему распределения — 23 л/кг для больного массой 40 кг.

9. Рассчитайте максимальную концентрацию в плазме принятого яда дигитоксина по дозе 150 мг и объему распределения — 0,5 л/кг для больного массой 18 кг.

10. Рассчитайте константу скорости элиминации пимозиды из крови в мочу, если период полувыведения его равен 48 ч. Считать, что механизм элиминации соответствует одночастевой модели.

11. Рассчитайте максимальную концентрацию в плазме принятого яда амитриптилина по дозе 150 мг и объему распределения — 20 л/кг для больного массой 10 кг.

12. Механизм элиминации дигоксина соответствует одночастевой модели. Рассчитайте его клиренс, используя справочные данные. Известно, что объем распределения ди-

гоксин  
дения

13

пренол  
равен  
вует с

14.

приня  
ления

15.

одноча  
справ  
пиндо  
ведени

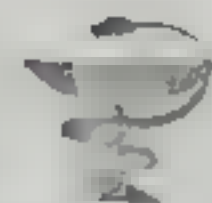
Лите

1. М

2. "

Т.В. П  
С. 125-





гоксина составляет 7,1 л/кг, а значение периода полувыведения находится в диапазоне 20–50 ч.

13. Рассчитайте константу скорости элиминации окспренолола из крови в мочу, если период полувыведения его равен 2 ч. Считать, что механизм элиминации соответствует одночастевой модели.

14. Рассчитайте максимальную концентрацию в плазме принятого яда пиндолола по дозе 750 мг и объему распределения — 2 л/кг для больного массой 15 кг.

15. Механизм элиминации пиндолола соответствует одночастевой модели. Рассчитайте его клиренс, используя справочные данные. Известно, что объем распределения пиндолола составляет 2,0 л/кг, а значение периода полувыведения находится в диапазоне 2–4 ч.

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 125–144.



## ЗАНЯТИЕ 8

### БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ТОКСИКАНТОВ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар «Механизмы биотрансформации токсичных веществ в организме. Токсичность продуктов биотрансформации и их влияние на проведение химико-токсикологического анализа (ХТА)».
- III. Итоговый тест.

#### *Целевые задачи*

- изучить реакции 1-й фазы биотрансформации и природу ферментов, катализирующих их;
- изучить реакции 2-й фазы биотрансформации ксенобиотиков в организме и природу косубстратов, участвующих в них;
- познакомиться с примерами реакций летального синтеза и вторичного метаболизма;
- изучить влияние продуктов биотрансформации на проведение химико-токсикологического анализа.

#### *Краткое теоретическое введение*

Вещества, поступившие в организм с пищей, а также лекарственные вещества и другие ксенобиотики под влиянием ферментов подвергаются химическим превращениям. Про-

цесс превр  
ется мет  
образуюш  
литами,

Преоб  
шей токс  
вались. М  
ния, поэт  
метаболиз  
является

В нек  
зываются  
продукты

В 1-й  
тем ксен  
нию, гид  
сульфиро

Во 2-й  
литов с б  
ляются р  
нения, к  
вращаяс  
Способно  
пать в ре  
лах функ

V I. Вх

Пример

Выбе

1. К

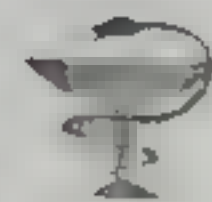
a) гл

b) ад

c) су

d) ги





цесс превращения поступивших в организм веществ называется *метаболизмом*, или *биотрансформацией*, а вещества, образующиеся при этих превращениях, называются *метаболитами*, или *продуктами биотрансформации*.

Преобладающее число метаболитов характеризуется меньшей токсичностью, чем ксенобиотики, из которых они образовались. Метаболиты, как правило, более полярные соединения, поэтому легко выводятся из организма. Таким образом, метаболизм лекарственных веществ и других ксенобиотиков является одним из путей детоксикации.

В некоторых случаях продукты биотрансформации оказываются более токсичными, чем исходные вещества. Это продукты *летального синтеза*.

В 1-й фазе метаболизма под влиянием ферментных систем ксенобиотики подвергаются окислению, восстановлению, гидролизу, дезаминированию, дезалкилированию, десульфированию и другим типам превращений.

Во 2-й фазе метаболизма происходит конъюгация метаболитов с биогенными соединениями. Реакции конъюгации являются реакциями биосинтеза. Известны чужеродные соединения, которые, минуя 1-ю фазу биотрансформации (не превращаясь в метаболиты), вступают в реакции конъюгации. Способность чужеродных соединений и метаболитов вступать в реакции конъюгации зависит от наличия в их молекулах функциональных групп.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. К 1-й фазе биотрансформации относятся реакции:

- a) глюкуронирование;
- b) ацетилирование;
- c) сульфоконъюгирование;
- d) гидратация эпоксида.





2. Реакции биотрансформации обычно приводят к образованию продукта, который:

- a) преимущественно распределен внутри клетки;
- b) обладает более высокой токсичностью;
- c) менее растворим в липидах по сравнению с исходным ксенобиотиком;
- d) более растворим в липидах по сравнению с исходным ксенобиотиком.

3. Индуцирование биотрансформации ксенобиотика является результатом:

- a) необратимых изменений ферментативной активности;
- b) возрастания количества ферментов в эндоплазматическом ретикулуме;
- c) снижения количества ферментов в клеточном ядре;
- d) длительных (многомесячных) метаболических превращений.

4. Моноксигеназа цитохрома P450 катализирует следующие реакции:

- a) сульфоконъюгирование;
- b) гидроксилирование;
- c) O-деалкилирование;
- d) эпоксидирование.

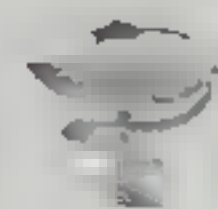
5. Ксенобиотики, участвующие в энтерогепатической циркуляции, подвергаются:

- a) абсорбции жировой тканью, абсорбции тканью печени, желчной экскреции;
- b) абсорбции клетками кишечника, кишечной экскреции;
- c) абсорбции энтероцитами, всасыванию в кровь, желчной экскреции;
- d) абсорбции энтероцитами и биотрансформации.

6. Верны утверждения:

- a) глюкуронидные конъюгаты легко экскретируются почками;
- b) липидорастворимые метаболиты накапливаются в жировой ткани;
- c) снижение pH мочи способствует почечной экскреции лекарственных веществ кислотной природы;





- d) для токсиканта кислотной природы ( $pK_a = 3$ ) в состоянии равновесия отношение неионизированной и ионизированной форм ( $HA/A^-$ ) равно 1 при  $pH = 3$ .

**7. Верны утверждения о микросомальных монооксигеназах цитохрома P450 печени:**

- a) для работы системы цитохром P450 монооксигеназы необходимы НАДФН и молекулярный кислород;
- b) в цитохром P450 монооксигеназную систему входят только экзогенные химические вещества;
- c) цитохром P450 монооксигеназная система катализирует N- и O-деалкилирование;
- d) цитохром P450 монооксигеназная система катализирует алифатическое и ароматическое гидроксילирование.

**8. Верны утверждения:**

- a) объем распределения — это величина, связывающая концентрацию токсиканта в плазме с общим содержанием химического вещества в организме;
- b) клиренс — это объем жидкости, из которого удаляется токсичное вещество;
- c) полупериод элиминации — это время, необходимое для снижения концентрации токсиканта в организме наполовину;
- d) глюкуронирование представляет собой конъюгацию с глутатионом.

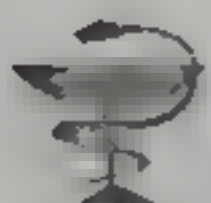
**9. Биотрансформация ксенобиотиков — важный защитный механизм для живых систем, потому что:**

- a) приводит к увеличению растворимости любого токсиканта в воде;
- b) всегда приводит к уменьшению токсичности;
- c) характерна для всех ядов и всегда сопровождается их элиминацией;
- d) протекает с участием ферментов, находящихся в большинстве тканей организма.

**10. Реакции конъюгации:**

- a) всегда приводят к инаktivации метаболитов;





- b) способствуют снижению молярной массы многих токсикантов;
- c) способствуют образованию растворимых в воде продуктов;
- d) включают гидроксилирование и глюкуронирование.

**11. Верны утверждения, касающиеся реакций биотрансформации:**

- a) эстеразы способствуют присоединению воды к исходным токсичным веществам с образованием кислот и спиртов;
- b) эпоксидгидролазы способствуют отщеплению воды от эпоксидов;
- c) восстановление хинона при присоединении одного электрона с образованием активного анион-радикала семихинона приводит к оксидативному стрессу;
- d) этанол окисляется до ацетальдегида с участием только алкогольдегидрогеназы.

**12. Косубстраты 2-й стадии биотрансформации:**

- a) уридин-5'-дифосфо- $\alpha$ -D-глюкуроновая кислота;
- b) S-аденозилметионин;
- c) 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат;
- d) аминокислоты таурин и глицин.

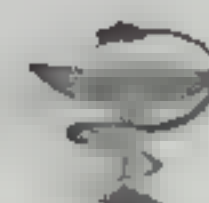
**13. Летальный синтез (биоактивация) — это процесс:**

- a) образования химического соединения, которое легче экскретируется из организма;
- b) образования более токсичного химического соединения, взаимодействующего с ДНК;
- c) образования более токсичных химических веществ при участии ферментов биотрансформации;
- d) процесс, в котором химические вещества стимулируют синтез новых белков.

**14. Какие из реакций биотрансформации соответствуют ферментам, катализирующим эти реакции:**

- a) глюкуронирование — УДФ-глюкуронозилтрансфераза;
- b) сульфоокисление — цитохром P450 монооксигеназа;





- c) дезаминирование — эпоксидгидролаза;
- d) гидроксילирование — цитохром P450-зависимая гидроксилаза.

15. Ферменты, катализирующие реакции 2-й фазы биотрансформации:

- a) эпоксидгидролаза;
- b) глюкуронозилтрансфераза;
- c) сульфотрансфераза;
- d) ацетилтрансфераза.

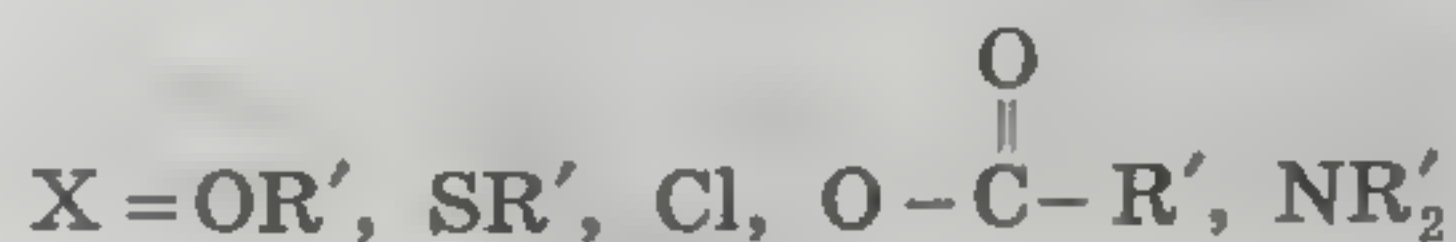
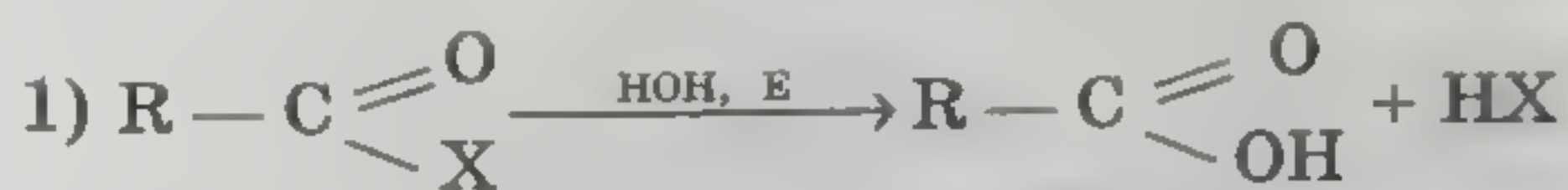
## V II. Семинар «Механизмы биотрансформации токсичных веществ в организме. Токсичность продуктов биотрансформации и их влияние на проведение химико-токсикологического анализа (ХТА)»

### Задания для работы на занятии

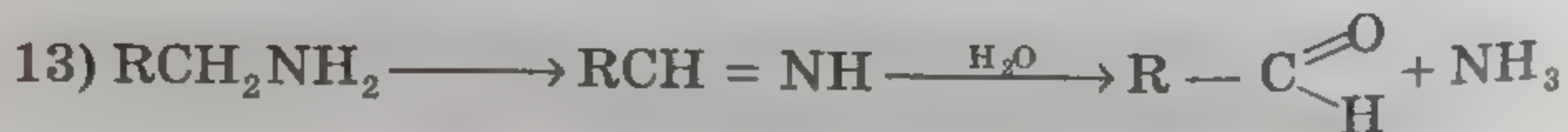
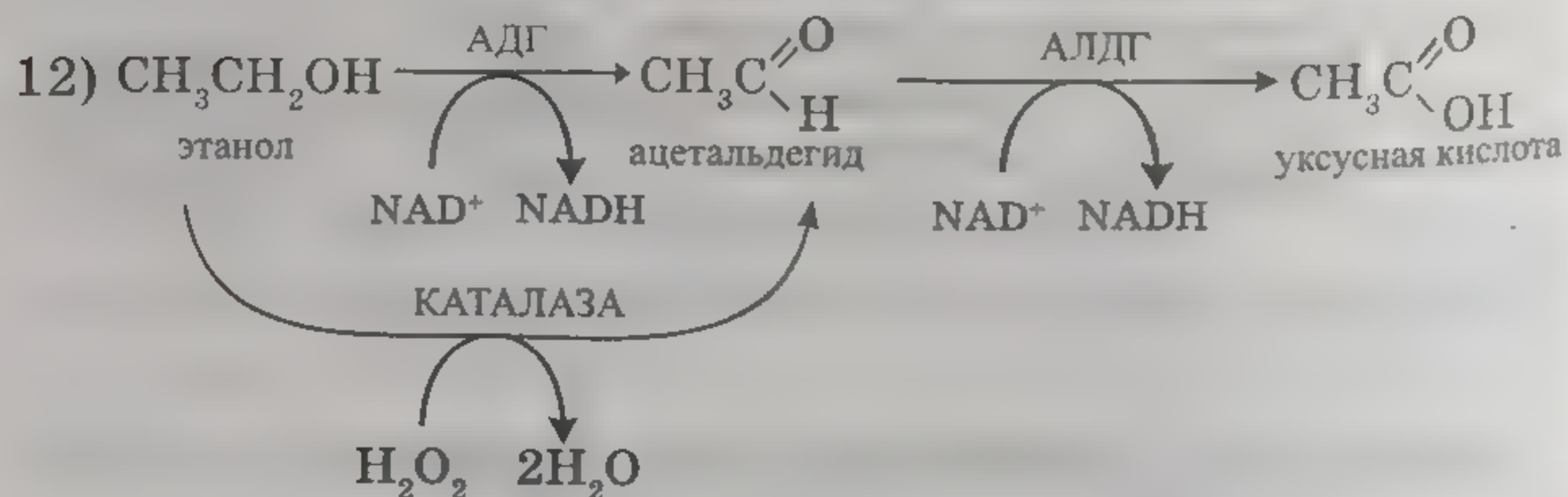
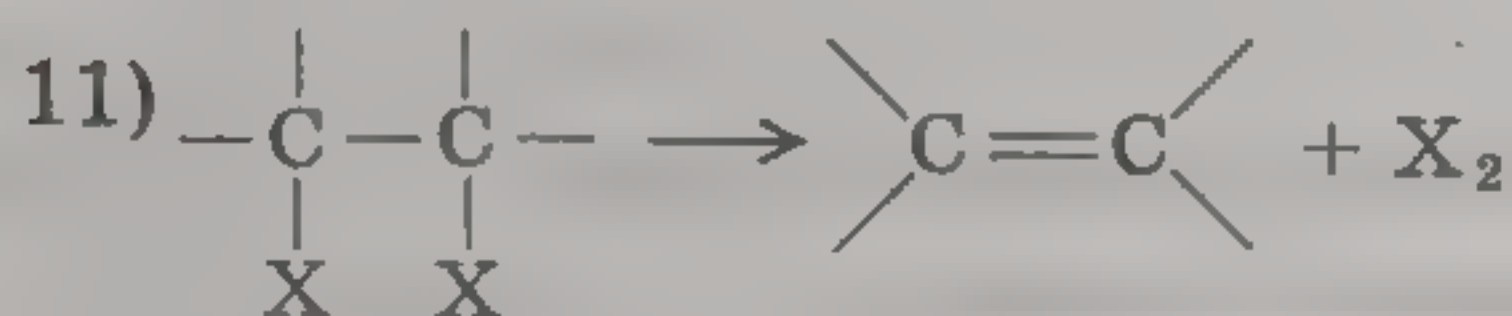
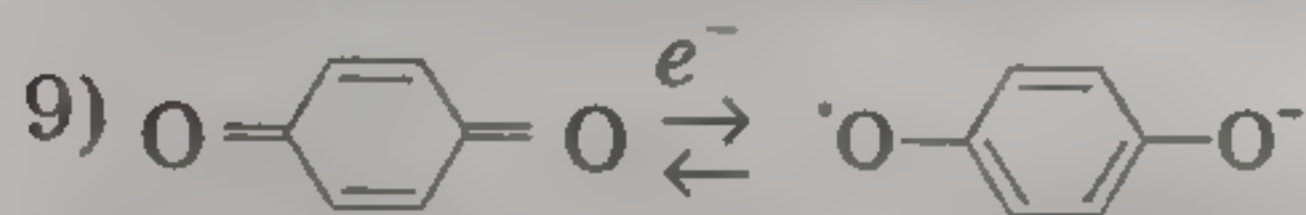
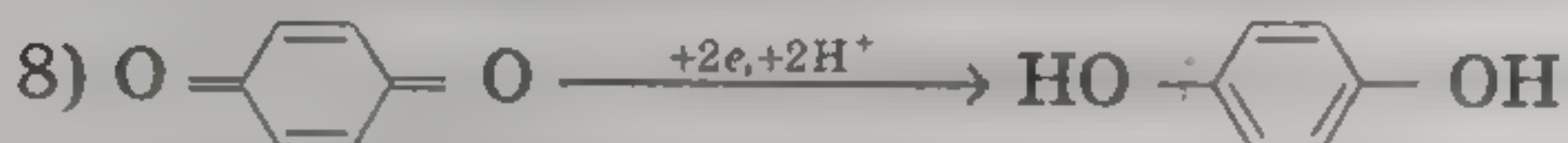
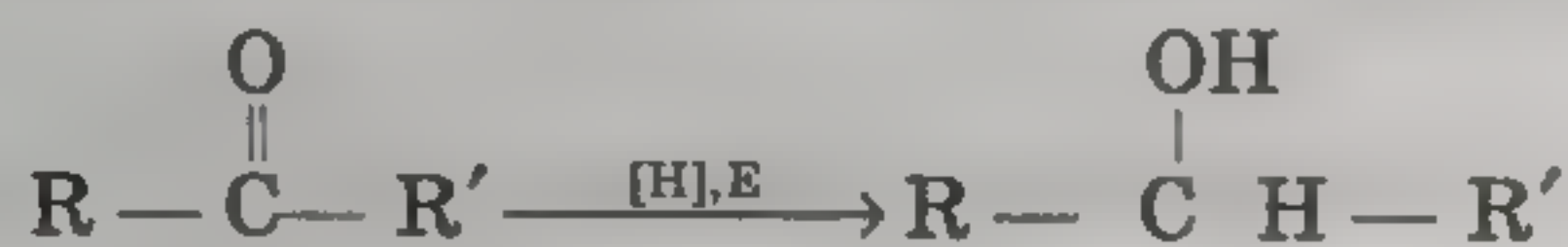
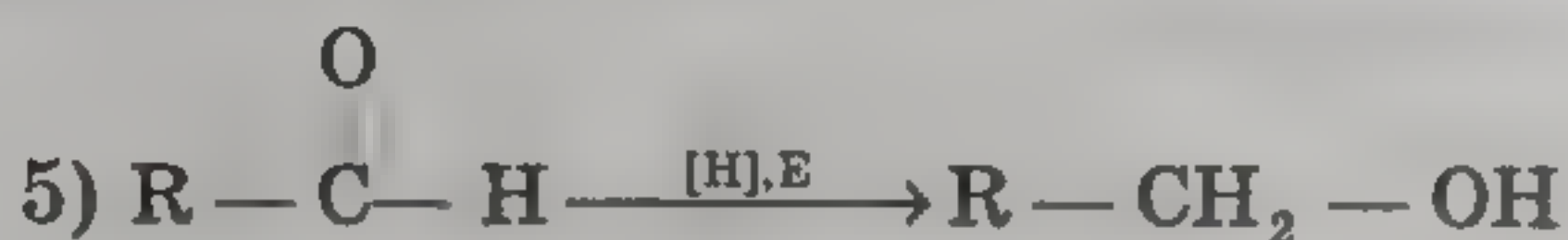
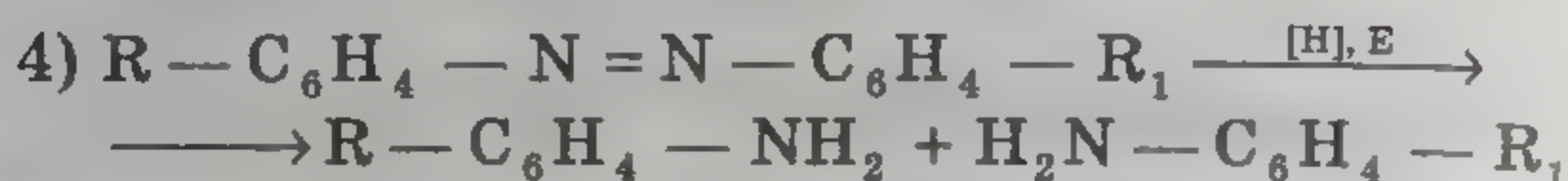
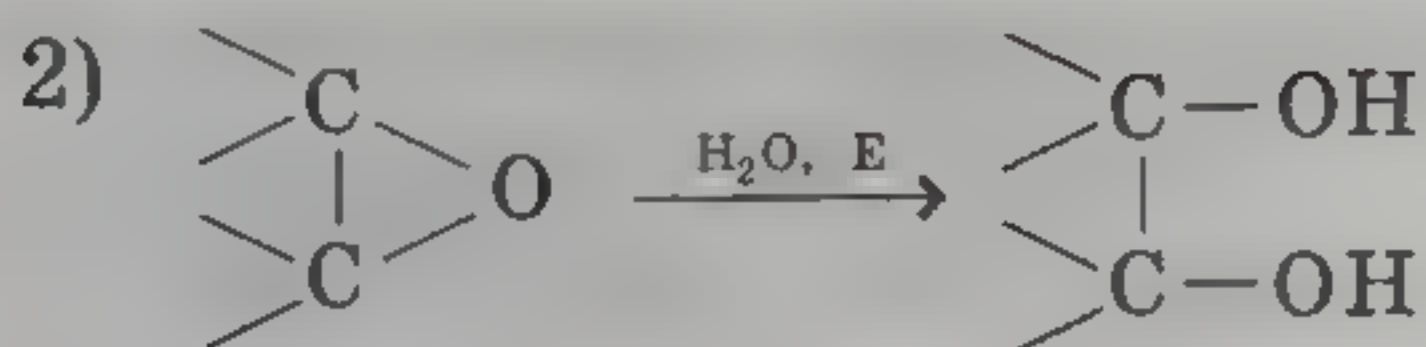
#### Задание 1

Дайте характеристику процесса (окисление, восстановление, гидролиз, конъюгация, глюкуронирование и т.д.), укажите фазу биотрансформации, приведите названия других ферментов этого класса. Ответы представьте в виде таблицы.

№ п/п	Реакция биотрансформации	Механизм реакции	Фаза биотрансформации	Фермент, катализирующий реакцию
1				
2				



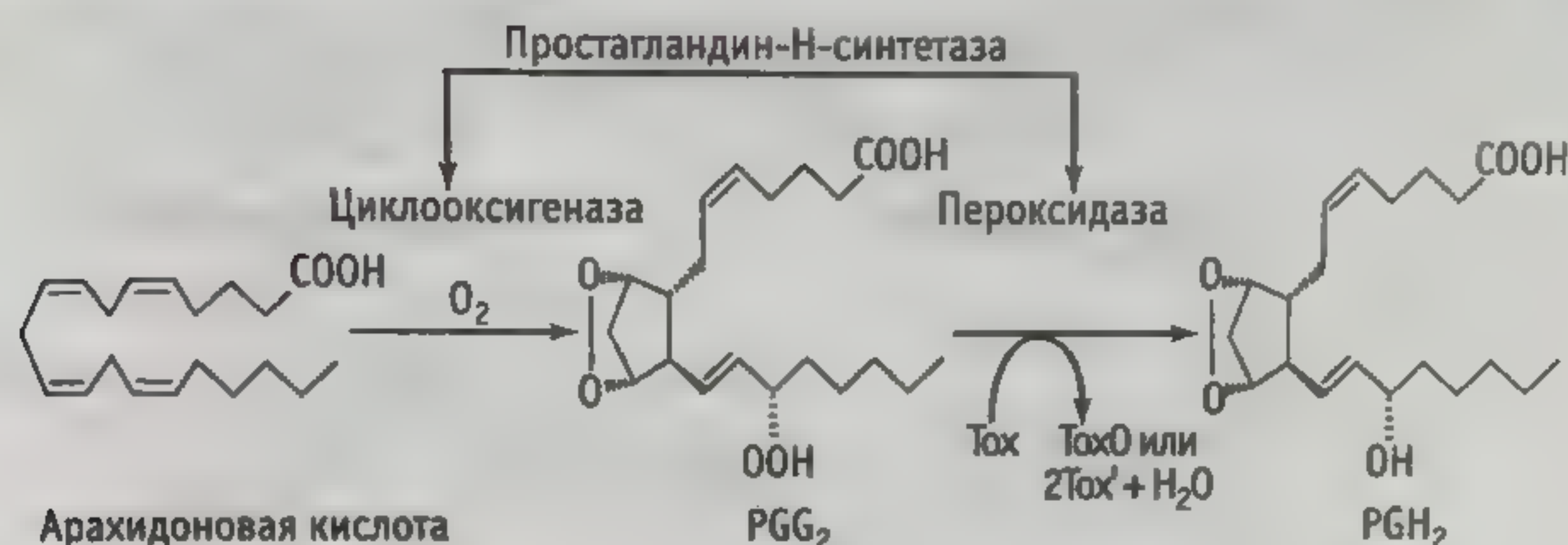








14)



## Задание 2

Приведите примеры глюкуронирования для различных субстратов:

1) (получение простого эфира) с участием косубстрата — уридиндифосфата глюкуроновой кислоты (УДФ-глюкуроновая кислота) и фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы. Субстраты: нафтол, хлорамфеникол, билирубин;

2) (получение N-глюкуронида) с участием косубстрата — уридиндифосфата глюкуроновой кислоты (УДФ-глюкуроновая кислота) и фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы. Субстрат — анилин;

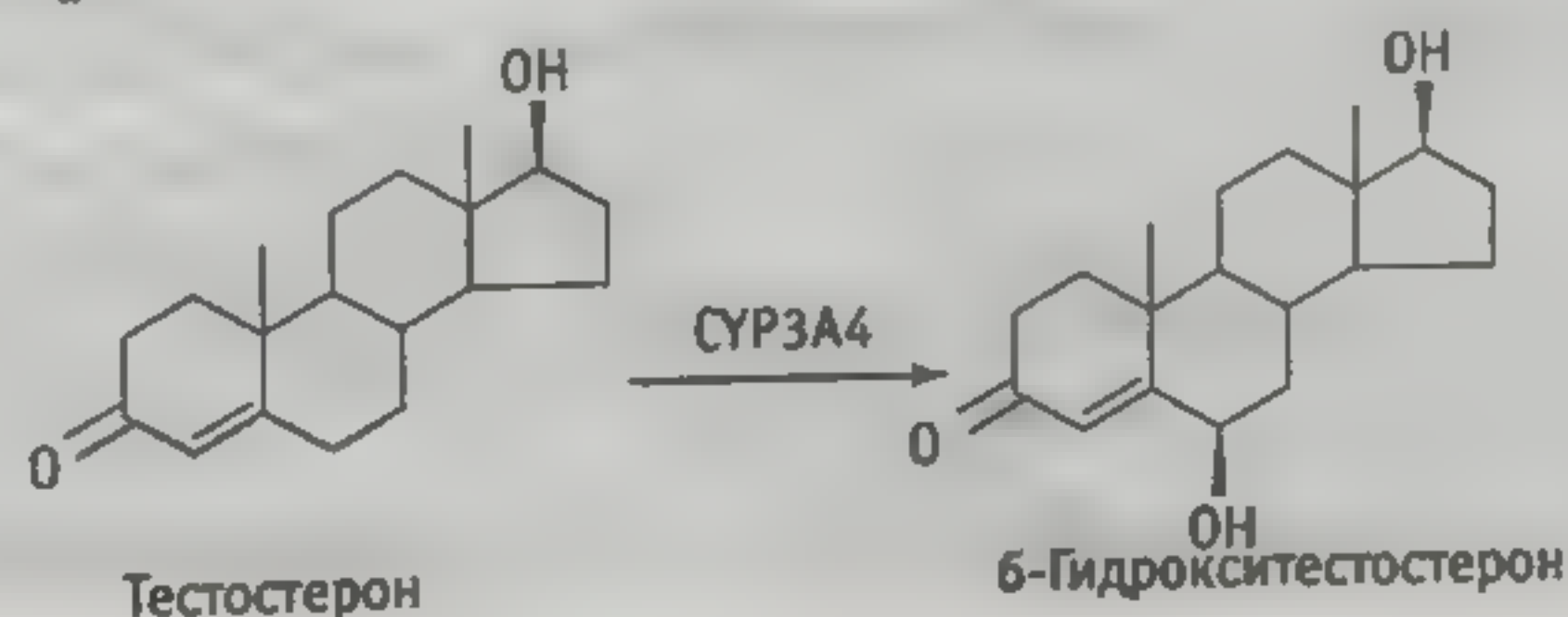
3) (получение O-глюкуронида) с участием косубстрата — уридиндифосфата глюкуроновой кислоты (УДФ-глюкуроновая кислота) и фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы. Субстрат — фенилбутазон;

4) (получение S-глюкуронида) с участием косубстрата — уридиндифосфата глюкуроновой кислоты (УДФ-глюкуроновая кислота) и фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы. Субстраты: диэтилдитиокарбамат, тиофенол.

## Задание 3

Дайте характеристику процесса (окисление, восстановление, гидролиз, конъюгация, глюкуронирование и т.д.), укажите фазу и ферменты биотрансформации:

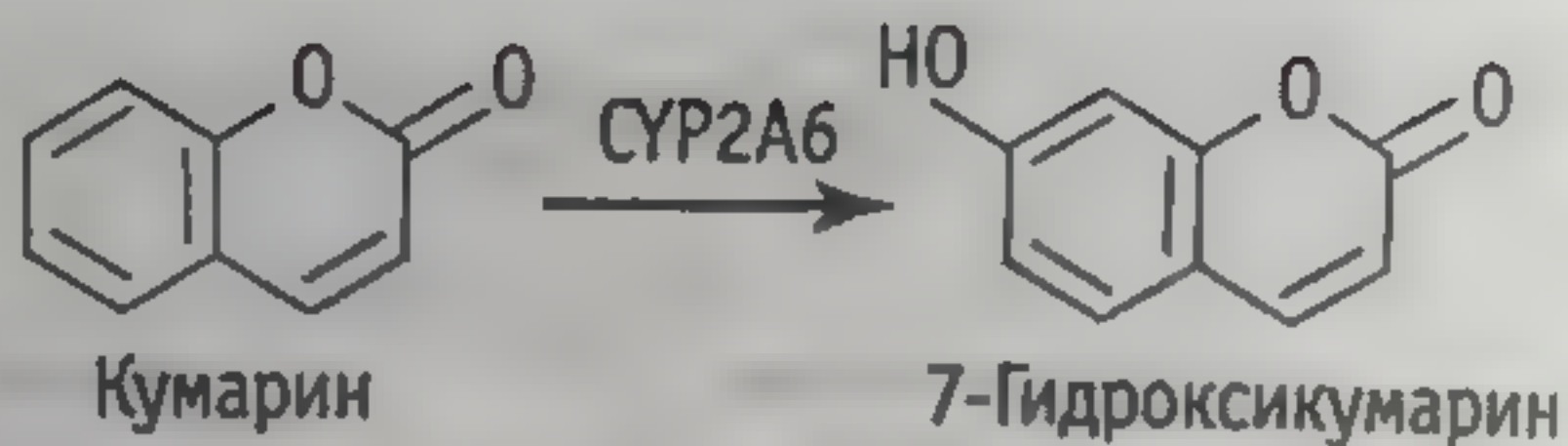
1)



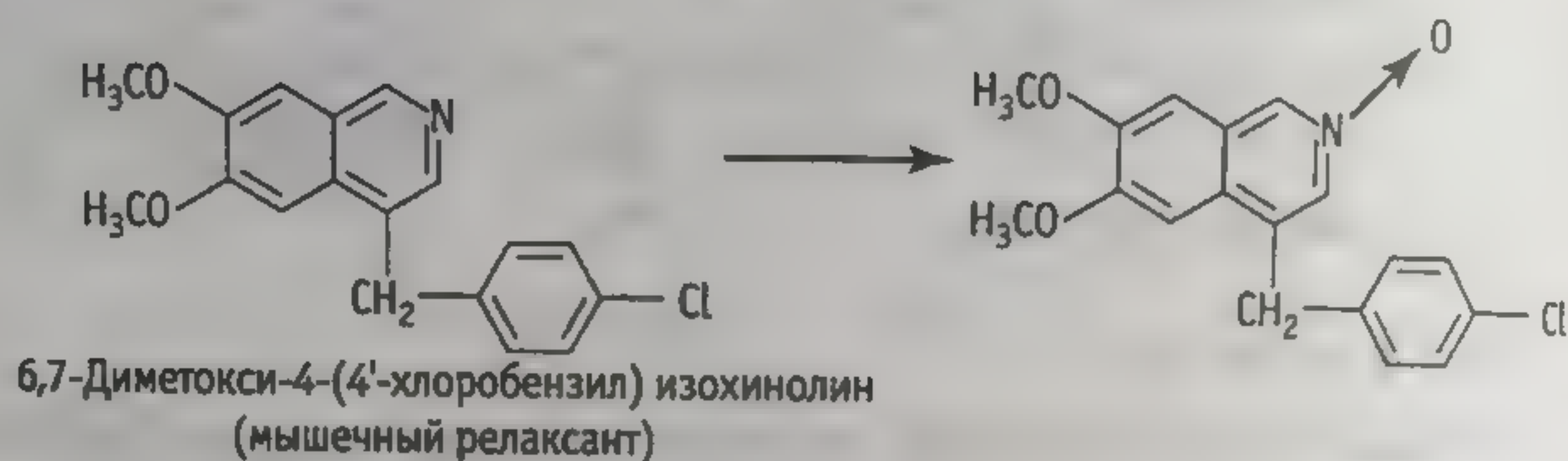




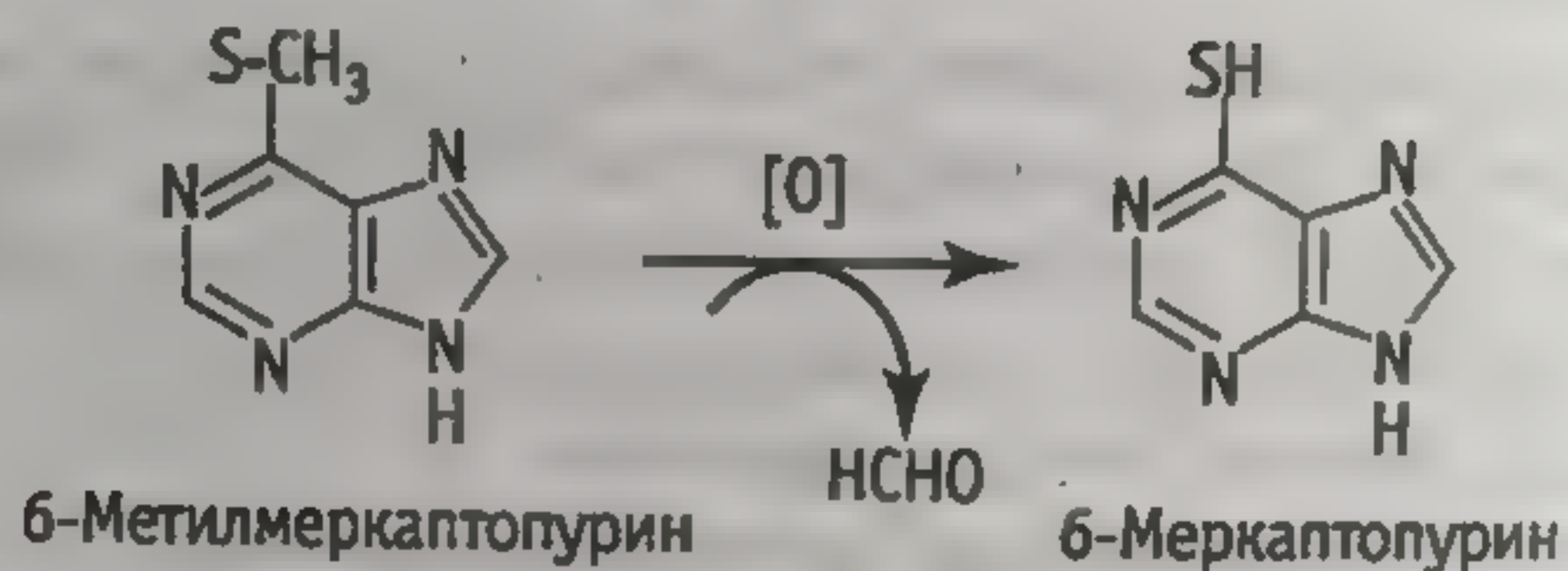
2)



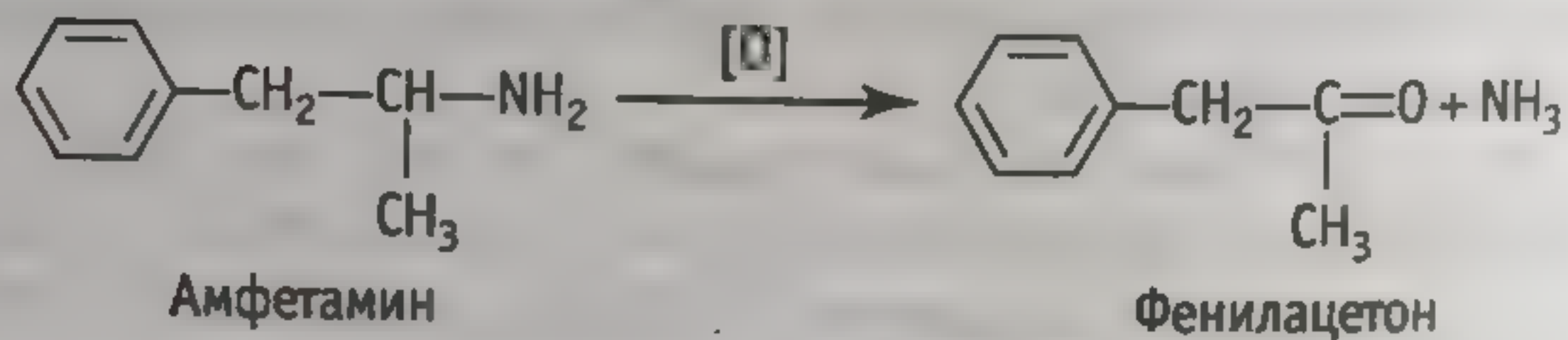
3)



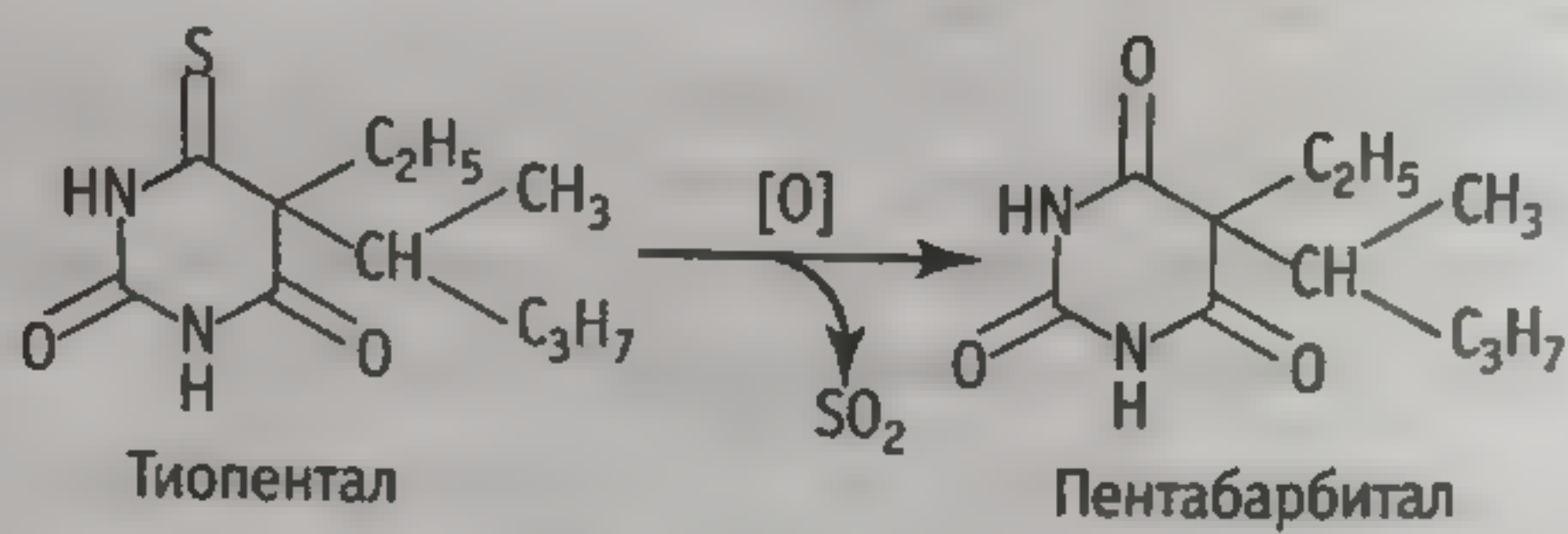
4)



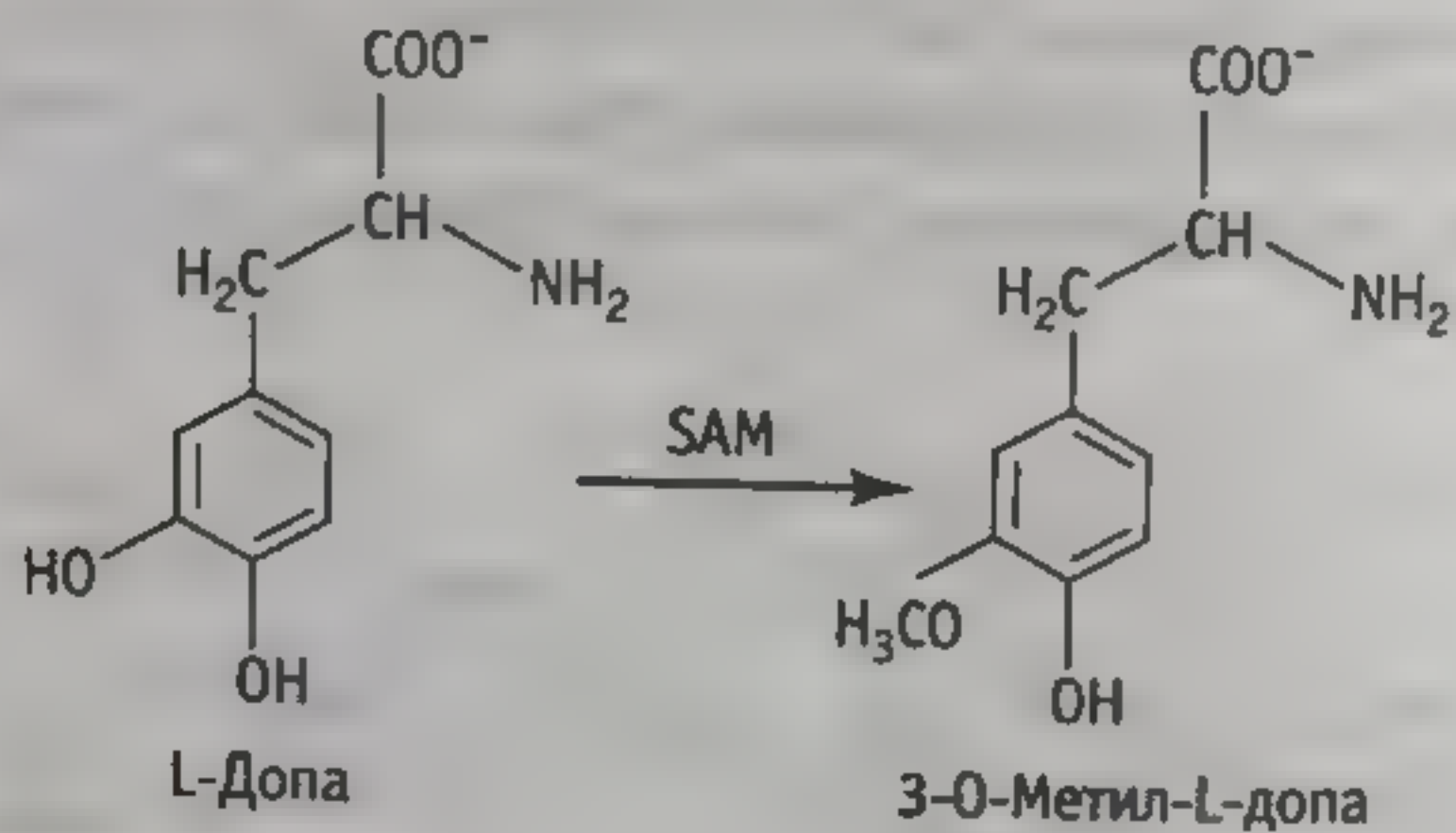
5)



6)



7)



8)

9)

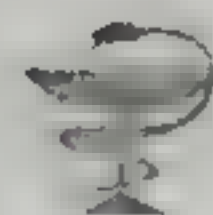
10)

## V III. И

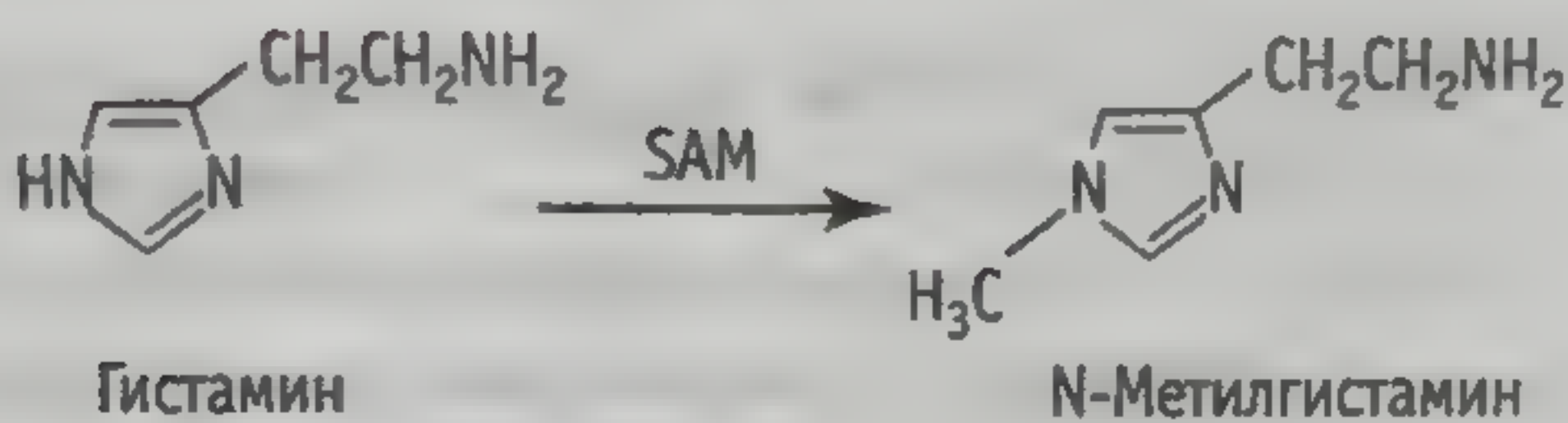
### Образцы

1. Вст
- 1) Био
- мич
- числ
- 2) Про
- 3) Про
- ются
- 4) Про
- .....
- 5) Про
- шаю
- 6) Био
- 7) Обы
- меня
- ции,

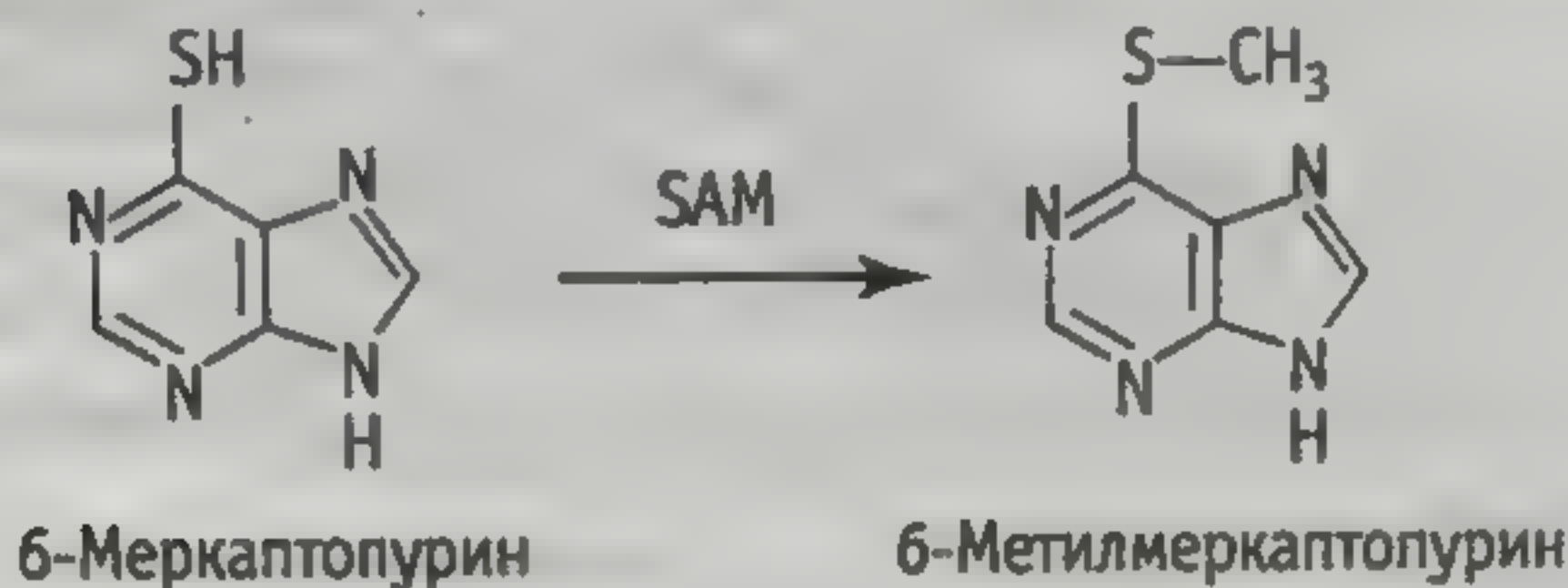




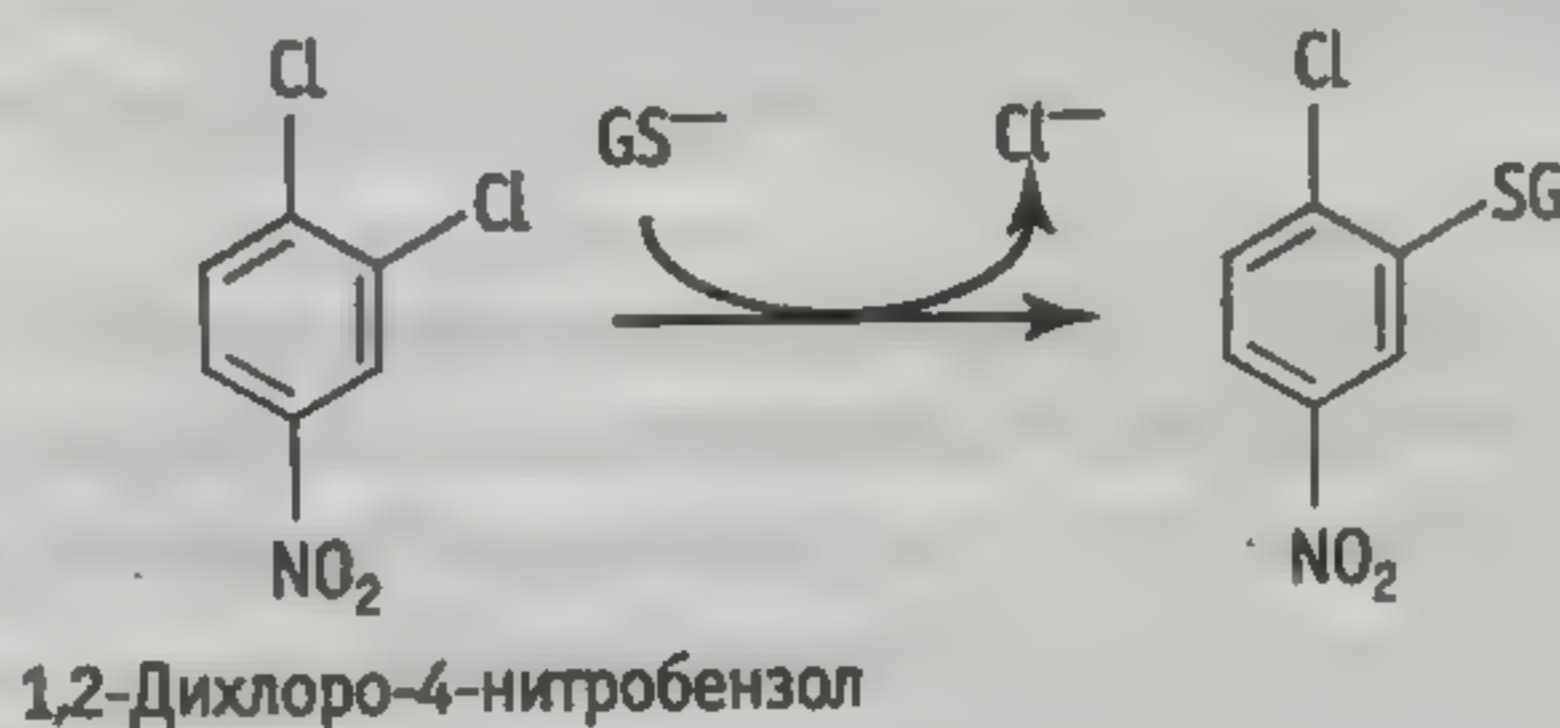
8)



9)



10)



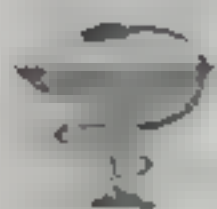
## V III. Итоговый тест

### Образцы вопросов

1. Вставьте пропущенные слова или сочетания:

- 1) Биотрансформация ..... ксенобиотиков разных химических классов протекает с использованием ..... числа ферментов.
- 2) Процессы 1-й фазы биотрансформации — .....
- 3) Процессы 1-й фазы биотрансформации обычно завершаются незначительным ..... молекулы ксенобиотика.
- 4) Процессы 2-й фазы биотрансформации включают ....., ....., а также .....
- 5) Процессы 2-й фазы биотрансформации обычно завершаются увеличением ..... и .....
- 6) Биотрансформация — это .....
- 7) Обычно физико-химические свойства ксенобиотика изменяются от ....., благоприятствующих абсорбции, к ....., способствующим почечной экскреции.





- 8) Некоторые ксенобиотики при биотрансформации превращаются в более ..... метаболиты с более выраженными терапевтическими (в случае лекарств) или токсическими свойствами (летальный синтез).
- 9) В большинстве случаев биотрансформация приводит как к ..... биологической активности (фармакологического эффекта) лекарственного средства, так и к ..... токсичности любого другого ксенобиотика.
- 10) Синтез стероидных гормонов катализируется ферментами .....
- 11) Превращение стероидных гормонов в растворимые в воде метаболиты также катализируется ферментами .....
- 12) Изучением причин и последствий наследственных особенностей каталитической активности ферментов, участвующих в процессах биотрансформации ксенобиотиков, занимается наука .....
- 13) Все изменения токсичных веществ до поступления в системный кровоток называются ..... или .....

2. Найдите соответствия между ксенобиотиком и его токсичным метаболитом:

Ксенобиотик	Более токсичный метаболит
1. Метанол	а) диметилнитрозамин
2. Пестицид паратион	б) муравьиная кислота
3. Амидопирин	в) параоксон — ингибитор холинэстеразы
	г) формальдегид

3. Найдите соответствия:

Понятие	Определение
1. Биотрансформация	а) наследственные особенности каталитической активности ферментов, участвующих в процессах биотрансформации ксенобиотиков
2. Метаболизм	б) абсорбция, распределение, биотрансформация, выведение
3. Фармакогенетика	в) энантиомеры
4. Ксенобиотики рацемические	г) метаболит
5. Хиральные ксенобиотики	е) стереоспецифичность
	ф) оптический антипод



4. Найдите соответствия:

1. Реакции 2-й фазы биотрансформации	a) глюкуронирование
2. Реакции 1-й фазы биотрансформации	b) конъюгация с глутатионом и аминокислотами (глицином, таурином, глутаминовой кислотой)
	c) гидролиз, восстановление и окисление протекают с участием функциональных групп —OH, —NH <sub>2</sub> , —SH и —COOH
	d) сульфирование, ацетилирование, метилирование
	e) приводят к незначительному увеличению гидрофильности
	f) завершаются значительным увеличением гидрофильности ксенобиотика

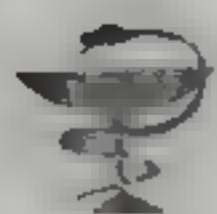
5. Найдите соответствия:

Процесс	Косубстрат
1. Вторичный метаболизм	a) образование более токсичных метаболитов при биотрансформации
2. Летальный синтез	b) посмертные метаболические процессы
	c) гниение белков
	d) разложение липидов
	e) бактериальные ферменты

6. Найдите соответствия и приведите химические формулы косубстратов, указав основные функциональные группы:

Процесс	Косубстрат
1. Глюкуронирование	a) S-аденозилметионин
2. Сульфоконъюгирование	b) ацетилкофермент А
3. Ацетилирование	c) 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат
4. Метилирование	d) уридин-5'-дифосфо-
5. Конъюгация с глутатионом	α-D-глюкуроновая кислота
6. Конъюгация с аминокислотами	e) таурин
7. Конъюгация с глицином, таурином, глутаминовой кислотой	f) глутатион
8. Конъюгация с таурином, глутаминовой кислотой	g) глутамин
9. Конъюгация с глутаминовой кислотой	h) глутаминовая кислота
	i) глицин





## 7. Найдите соответствия:

Реакция	Фермент
1. Гидролиз	a) альдегиддегидрогеназа
2. Восстановление	b) альдегидоксидаза
3. Окисление	c) простагландин-Н-синтетаза
4. 2-я фаза биотрансформации	d) флавинмонооксигеназа
5. 1-я фаза биотрансформации	e) цитохром P450
	f) алкогольдегидрогеназа
	g) эстераза
	h) пептидаза
	i) эпоксидгидролаза
	j) биотрансформация азо-(-N=N-)- и нитро-(-NO <sub>2</sub> )-групп
	k) дегалогенирования
	l) конъюгации с глюкуронидом
	m) конъюгации с сульфатом
	n) конъюгации с глутатионом
	o) конъюгации с аминокислотами
	p) ацетилирование
	q) метилирование

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 98–124.
3. Essentials of Toxicology / Ed. Curtis, D. Klaasen, John B. Watkins. — N.Y.: Medical Publishing Division, 2003. — 535p.



## ЗАНЯТИЕ

9

### КОМБИНИРОВАННАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар «Типы комбинированной токсичности. Физико-химические и биохимические методы в исследовании индивидуальной и комбинированной токсичности веществ органической и неорганической природы».
- III. Лабораторная работа «Индивидуальная и комбинированная токсичность токсикантов разных химических классов с использованием инфузории *Spirostomum ambigua*».

#### *Целевые задачи*

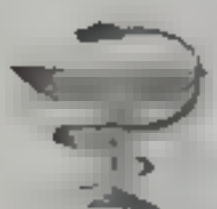
- научиться различать основные типы комбинированной токсичности химических веществ: суммирование, синергизм, потенцирование, антагонизм;
- на примере гликолевой, трихлоруксусной кислот и фенола рассмотреть их влияние как по отдельности, так и в различных комбинациях на жизнедеятельность инфузории *Spirostomum ambigua*;
- научиться оценивать токсичность ксенобиотиков по значениям энергии активации гибели клеточной культуры.

#### *Краткое теоретическое введение*

##### **Типы комбинированных воздействий**

При комбинированном действии токсикантов ответ организма может усиливаться, ослабляться или не изменять-





ся в зависимости от природы ксенобиотиков и мишени их действия.

*Аддитивным* называют комбинированное действие токсикантов, если по силе оно равно сумме индивидуальных эффектов ( $2 + 3 = 5$ ). При остром ингаляционном отравлении белых крыс смесью фенола с формальдегидом ( $321 : 20$  мг/кг) величина вероятного ожидаемого эффекта и полученного при их комбинации равна 75% (гибель крыс).

*Синергическим* называют комбинированное действие токсикантов, в десятки раз превосходящее индивидуальный эффект ( $2 + 2 \rightarrow 20$ ).  $\text{CCl}_4$  и  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  являются гепатотоксичными веществами, но при совместном приеме они вызывают значительно большие повреждения печени, чем по отдельности.

*Потенцирование эффекта* наблюдается в тех случаях, когда вещество не вызывает повреждений органа/ткани, но при совместном приеме с другим ксенобиотиком усиливает эффект токсичного компонента ( $0 + 2 \rightarrow 10$ ). Изопропанол не является гепатотоксичным соединением, но при приеме внутрь в комбинации с четыреххлористым углеродом усиливает его гепатотоксичность.

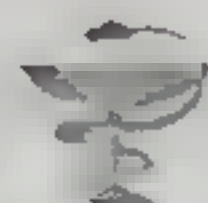
*Антагонизм* при комбинированном воздействии возникает в случае взаимодействия двух токсичных веществ между собой или при их конкурирующем влиянии на мишень токсичности ( $3 + 5 \rightarrow 1$ ). Токсичность иона свинца  $\text{Pb}^{2+}$  снижается при внутривенном введении антидота — трилона Б (обладающего токсичностью).

*Функциональным* называют такой *антагонизм*, при котором оба химических вещества компенсируют действие друг друга, оказывая противоположное влияние на орган или систему.

*Химический антагонизм*, или инактивация, возникает при обычном химическом взаимодействии двух химических веществ. Например, хелатные соединения снижают токсичность металлов за счет образования координационных соединений (хелатов).

*Диспозиционный антагонизм* происходит при снижении абсорбции токсиканта, изменении механизмов его биотрансформации, распределения или экскреции, способствующих





снижению токсичности одного из компонентов комбинированной смеси под влиянием другого. Так, можно снизить всасывание токсиканта с помощью активированного угля, усилить активность ферментов, участвующих в метаболизме, или ускорить экскрецию токсикантов из организма, назначая диуретики.

*Рецепторный антагонизм* возникает тогда, когда два токсиканта связываются с одним рецептором и их совместный эффект меньше, чем при индивидуальном воздействии, или по действию на рецептор они являются антагонистами.

Комбинированное воздействие химических агентов редко дает аддитивный эффект (сумма индивидуальных эффектов), оценка которого принята в санитарно-эпидемиологической практике в России и в некоторых других странах по формальному параметру суммарной предельно допустимой концентрации (ПДК). В действительности гораздо чаще встречается синергический эффект (усиление воздействия по сравнению с теоретическим аддитивным эффектом) или антагонистический эффект (ослабление токсического воздействия по сравнению с теоретическим аддитивным эффектом).

### Характеристика *Spirostomum ambigua*

*Spirostomum ambigua* (O.F. Müller, 1786) — одна из наиболее широко распространенных спиральноресничных инфузорий (*Spirostomidae*, *Heterotricha*, *Ciliophora*), классический объект исследований в биологии клетки и при биоиндикации. В природных условиях сапротроф-детритофаг часто обнаруживается в сильнозагрязненных и крайне микроанаэробных точках. Имеет лентовидную, несколько дорсовентрально-уплощенную форму тела, около 1 мм длиной, соотношение длины тела к его ширине примерно 1:10, макронуклеус четковидный, ротовой аппарат доходит до задней трети тела. Будучи потревоженной, клетка дает мгновенный ответ, сокращаясь по своей длине в 2–3 раза. Параметры сокращения зависят от температуры. При благоприятных условиях характеризуется высокой подвижностью как в горизонтальном, так и вертикальном направлении. Клетки *S. ambigua* в благоприятных условиях (слабоминерализованная среда культивирования





или дистиллированная вода, 19–29°C) не гибнут в течение времени, превышающего клеточный цикл (~20 ч). При внесении в среду химических веществ погибают в течение интервала времени, являющегося функцией как концентрации, так и температуры. Время жизни клетки рассчитывается как интервал от момента посадки до гибели клетки. Гибель клетки констатируется либо по разрыву мембраны с выходом содержимого протоплазмы наружу, либо по обездвиживанию с отсутствием сократительной реакции на механическое раздражение. Гибели клетки предшествует формирование промежуточного состояния с изменением морфометрических характеристик и оптических свойств (зернистости цитоплазмы), а также целый комплекс специфических поведенческих реакций. В норме *S. ambigua* совершает свободные передвижения в толще раствора с характерным чередованием сжатия/вытягивания клетки. В среде, содержащей компоненты фармацевтических препаратов или иные ксенобиотики, такое передвижение может сопровождаться конвульсивными подергиваниями, фиксацией около стенки ячейки, прецессионными движениями и другими характерными отклонениями от нормального плавания в трехмерной среде.

#### Энергия активации процесса лиганд-индуцируемой гибели *S. ambigua*

Энергия активации  $E_a$  является важнейшим критерием клеточных переходов и отражает условия катализа гибели клетки. Она может служить универсальным параметром токсичности при воздействии ксенобиотика. Для определения величины  $E_a$  применяют аррениусовские характеристики кинетики гибели (логарифм константы скорости реакции  $k$  от обратной температуры  $1/T$ ):

$$k = A \cdot e^{-E_a/RT}$$

$$\ln k = \ln A - (E_a/R) \cdot (1/T),$$

где  $k$  — константа скорости процесса;

$A$  — предэкспоненциальный множитель;

$R$  — газовая постоянная;

$T$  — абсолютная температура по шкале Кельвина.





В полулогарифмических координатах  $\ln k - 1/T$  по тангенсу угла наклона  $\beta$  прямой к оси абсцисс ( $\text{tg}\beta$ ) можно определить энергию активации гибели *S. ambigua* при воздействии того или иного ксенобиотика:  $\text{tg}\beta = -E_a/R$ .

### Токсичность карбоновых кислот и фенола

#### Гликолевая кислота ( $\text{HOCH}_2\text{COOH}$ , $M_r$ 76,05)

Бесцветные или белые кристаллы без запаха. Легко растворимы в воде (0,1 г/мл), спирте, ацетоне и этилацетате, pH водного раствора 1,7–2,5.

В эксперименте 70%-ный р-р гликолевой кислоты проявляет слабую токсичность при введении внутрь крысам ( $\text{DL}_{50}$  — 1938 мг/кг), умеренную токсичность — при ингаляционном введении (время экспозиции — 4 ч,  $\text{CL}_{50}$  — 3,6 мг/л для крыс-самцов). Клинические проявления токсического действия гликолевой кислоты включали: шум в легких, затрудненное дыхание, нарушения зрения и обоняния, повреждения глаз и носа, раздражение слизистых оболочек, гиперплазию плоского эпителия, летаргию, алопецию, потерю в весе и др. В сравнительных испытаниях на кроликах-самцах и людях изучалось повреждающее кожное действие 70%-ной гликолевой кислоты. Время экспозиции на людях составило 30 мин, при pH 0,6 отмечали частичный некроз и слущивание эпидермиса, при pH 1,8 — слущивание эпидермиса, а при pH 2,25 и 2,75 — частичную потерю рогового слоя эпидермиса. В опытах на кроликах установлено также повреждающее глазное действие 64%-ной гликолевой кислоты.

#### Трихлоруксусная кислота ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ , $M_r$ 163,39)

Бесцветные белые или с желтоватым оттенком кристаллы с острым характерным запахом. Гигроскопичны. Растворимы в воде, этаноле и диэтиловом эфире, pH водного раствора 1,2.

#### Острая токсичность трихлоруксусной кислоты (ТХУ) для людей

При вдыхании ТХУ вызывает повреждения тканей разной степени в зависимости от концентрации и длительности воздействия. Ранние симптомы включают: боль в горле, кашель, раздражение слизистой оболочки носа. При передозировке —





ровке могут возникнуть одышка, затруднение дыхания, головная боль, головокружение, слабость, отек легких.

При контакте с кожей наблюдаются покраснение, вздутие, боль, раздражение или ожог также в зависимости от концентрации и длительности воздействия ТХУ.

При контакте с глазами появляются покраснение, боль, раздражение, а в случае передозировки возможны нарушения зрения, вплоть до слепоты.

При приеме внутрь концентрированных растворов ТХУ возникают серьезные ожоги губ, ротовой полости и горла. К другим признакам отравления относятся: саливация, рвота с кровью, жжение и боль во рту, горле и животе, диарея. Тяжелые расстройства дыхательной и пищеварительной системы могут привести к смерти.

#### **Фенол ( $C_6H_5OH$ , $M_r$ 94,11)**

Бесцветные тонкие длинные игольчатые кристаллы или бесцветная кристаллическая масса с резким запахом. На воздухе постепенно розовеет. Гигроскопичен. Растворим в воде (87 г/л при 25° С), растворах щелочей, спирте, эфире, рН водного раствора 6,0.

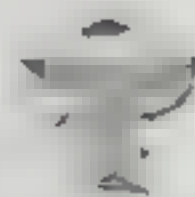
#### ***Острая токсичность фенола для людей***

Токсические дозы: смертельная доза установлена от 1 до 15 г.

После приема внутрь фенола в больших концентрациях возникают сильный ожог ротовой полости и глотки (некроз слизистой оболочки), боль в брюшной области, расстройство пищеварения, включая тошноту, рвоту и диарею. Лицо становится бледным, усиливается потоотделение, зрачки сужаются или расширяются, отмечается цианоз. Пульс обычно слабый и редкий, иногда он может учащаться, частота дыхания сначала увеличивается, затем снижается, температура тела непостоянна. Возбуждение быстро сменяется потерей сознания. Иногда наблюдаются подергивания отдельных мышечных волокон и даже конвульсии.

При вдыхании паров фенола происходит раздражение верхних дыхательных путей и глаз, может появиться хрип-





лое дыхание. К другим симптомам относятся: анорексия, потеря в весе, головная боль, головокружение, саливация.

Местные проявления при контакте с кожей включают эритему, воспаление и некроз. Гипотензия, почечная недостаточность, одышка и острый респираторный дистресс-синдром, развивающиеся вскоре после воздействия фенола, приводят к смерти.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

#### 1. Синергизм наблюдается:

- a) если два химических вещества с идентичным механизмом действия при поступлении в организм производят эффект, превышающий сумму эффектов при индивидуальном введении;
- b) если ксенобиотик с незначительным токсическим эффектом значительно увеличивает токсичность другого, более активного ксенобиотика;
- c) для ксенобиотиков с одинаковым токсическим эффектом при индивидуальном воздействии и двукратно возрастающим эффектом при комбинированном воздействии;
- d) если два наркотических вещества при совместном поступлении в организм производят эффект, идентичный эффекту при индивидуальном воздействии.

#### 2. Биоактивация (летальный синтез) может быть определена как процесс:

- a) образования химического соединения, которое легче экскретируется из организма;
- b) образования более токсичного химического соединения, взаимодействующего с ДНК;
- c) при котором ферменты биотрансформации способствуют образованию более токсичных химических веществ;
- d) в котором комбинированное действие химических веществ стимулирует синтез новых белков.





3. При комбинированном воздействии потенцирование наблюдается, если:

- а) ксенобиотик, вызывающий недостаточный собственный токсический эффект, увеличивает эффект второго, активного ксенобиотика;
- б) два ксенобиотика с одинаковыми эффектами совместно вызывают эффект, равный по величине сумме индивидуальных эффектов;
- с) два ксенобиотика с одинаковым токсическим эффектом при совместном воздействии вызывают эффект, превышающий сумму индивидуальных эффектов;
- д) два лекарства с одинаковым эффектом при совместном использовании производят удвоенный эффект.

4. Аддитивный эффект:

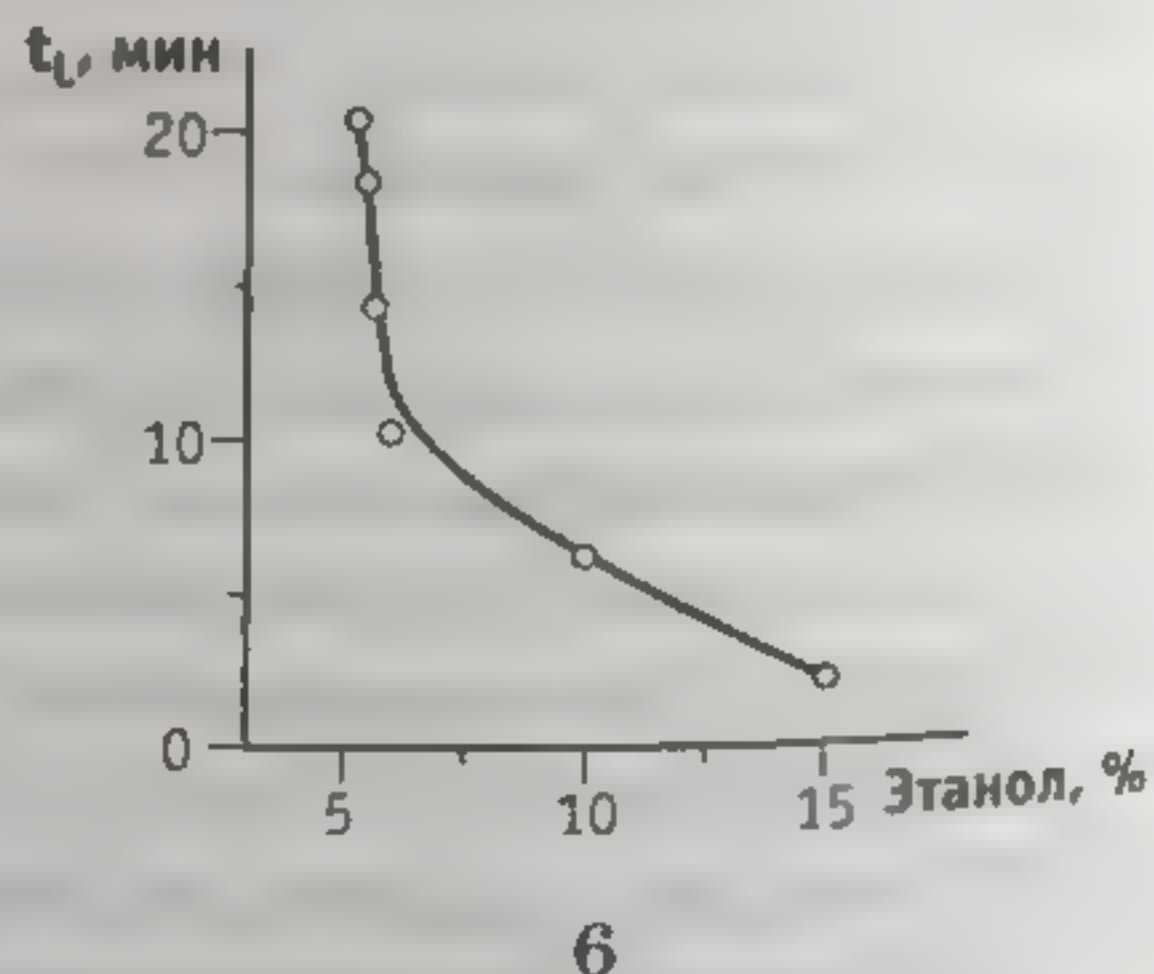
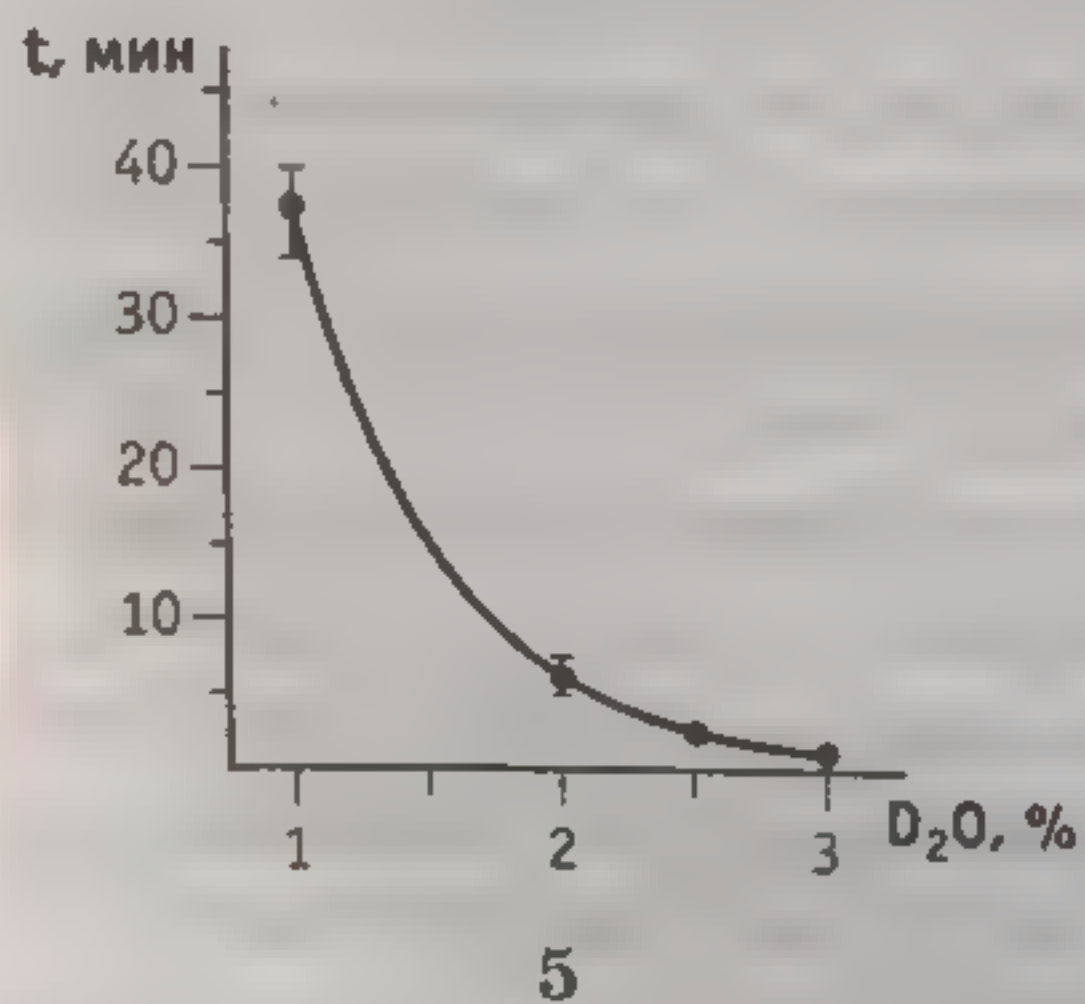
- а) равен сумме индивидуальных эффектов;
- б) в десятки раз превосходит индивидуальные эффекты;
- с) заключается в усилении эффекта более токсичного компонента;
- д) заключается в конкурентном влиянии на мишень токсичности.

5—7. Экстраполяцией кривой «концентрация — время жизни» к нулевой концентрации определить время жизни клетки в отсутствие токсиканта:

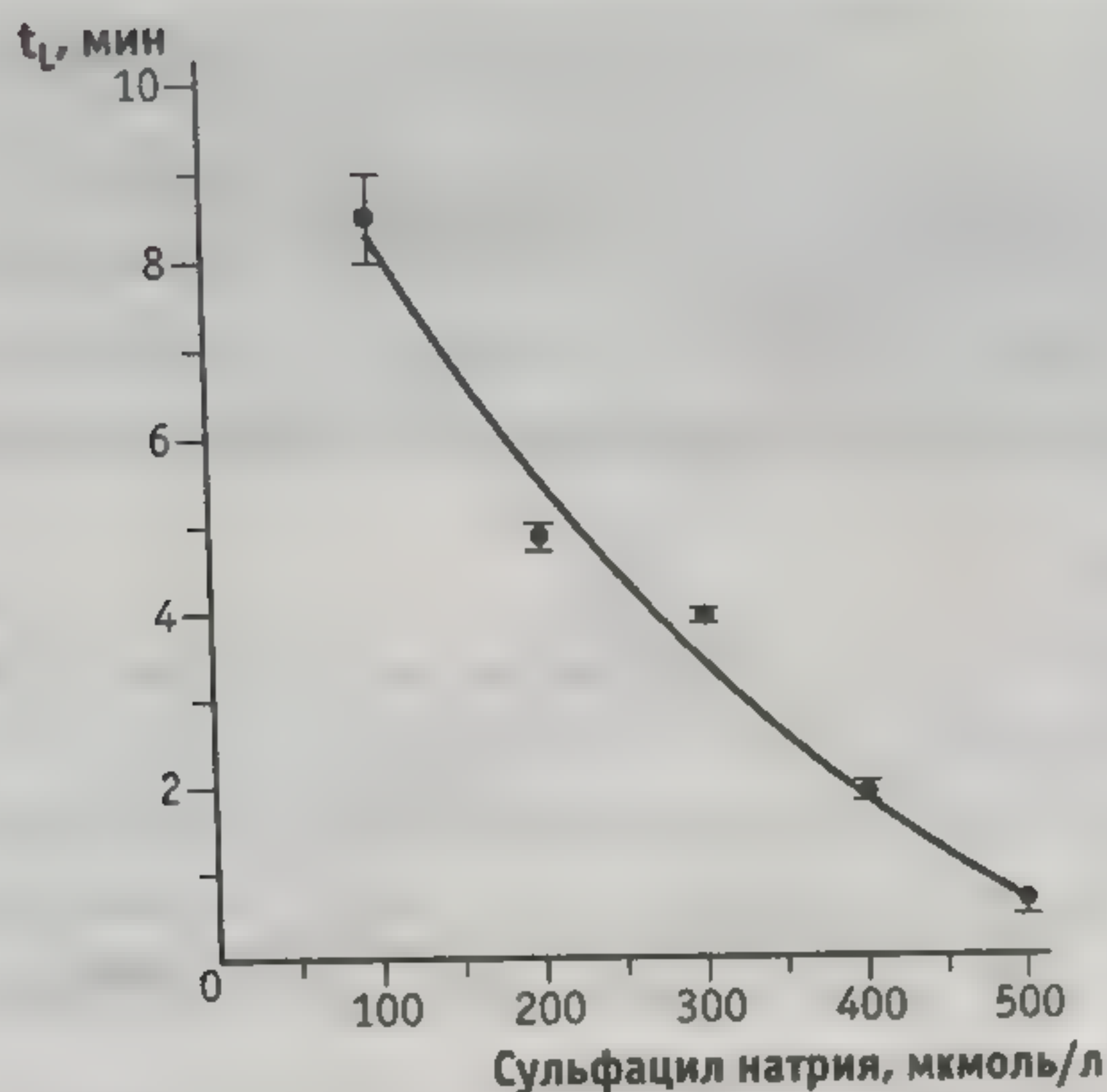
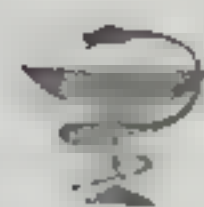
5 — токсикант — тяжелая вода  $D_2O$

6 — токсикант — этанол

7 — токсикант — сульфацил натрия







7

## V II. Семинар «Типы комбинированной токсичности. Физико-химические и биохимические методы в исследовании индивидуальной и комбинированной токсичности веществ органической и неорганической природы»

Образцы задач, входящих в карточки индивидуального задания

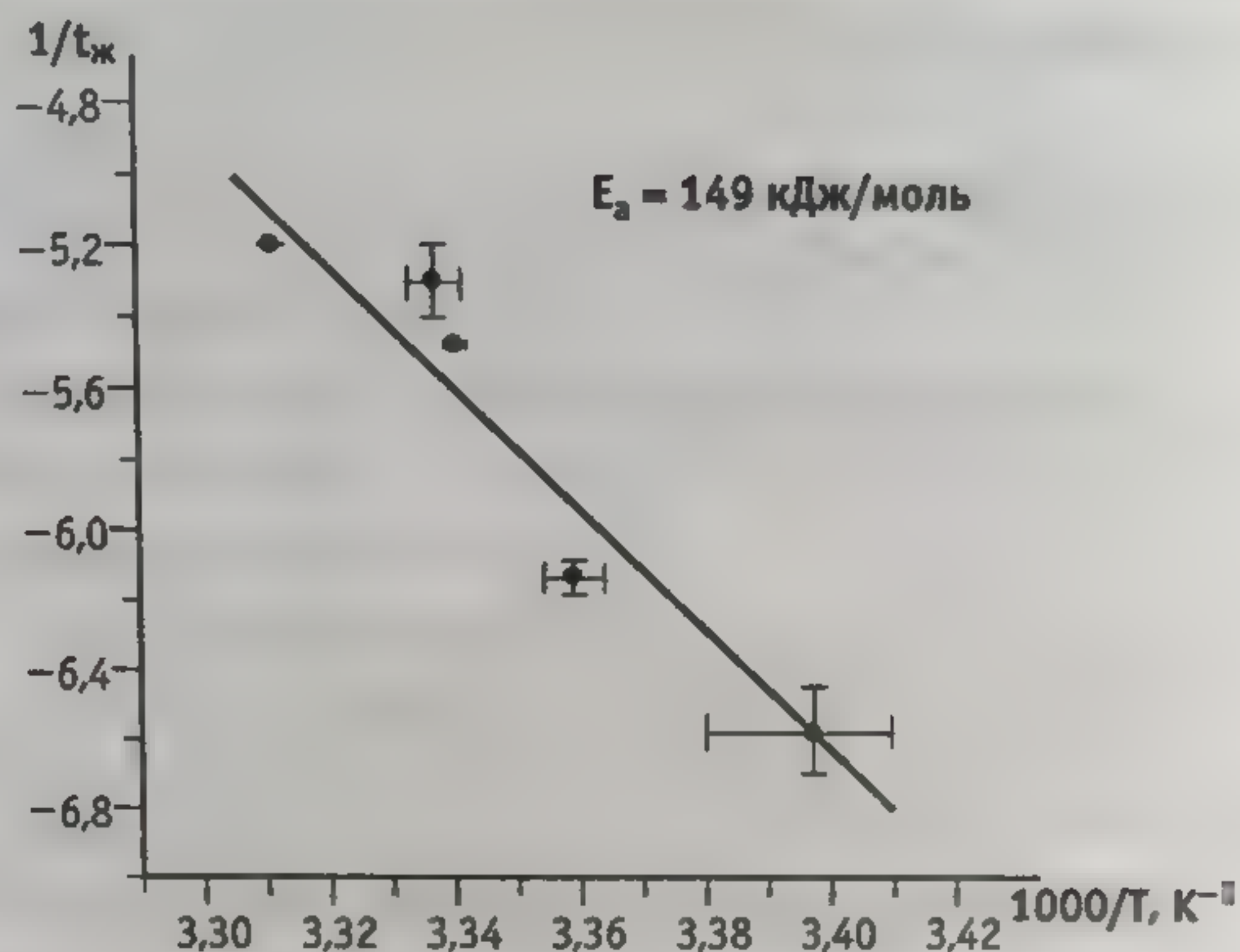
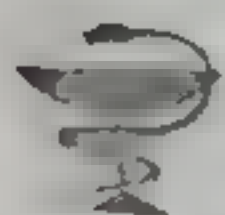
1. Покажите расчетным путем, что энергия активации процесса гибели *S. ambigua* при комбинированном действии глицина и сульфата цинка составляет 149 кДж/моль. Для этого воспользуйтесь формулами:

$$k = A \cdot e^{-E_a/RT}$$

$$\ln k = \ln A - (E_a/R) \cdot (1/T),$$

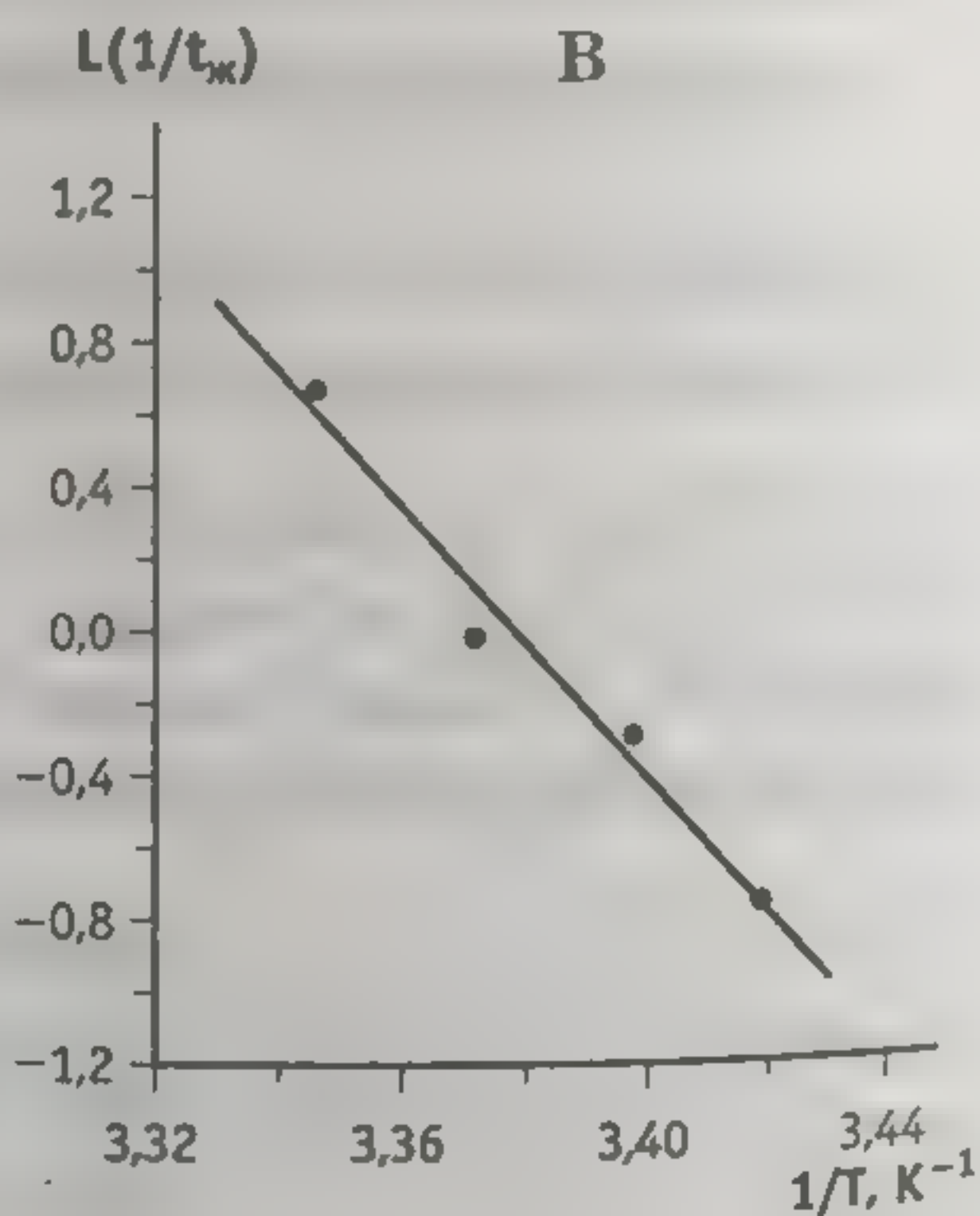
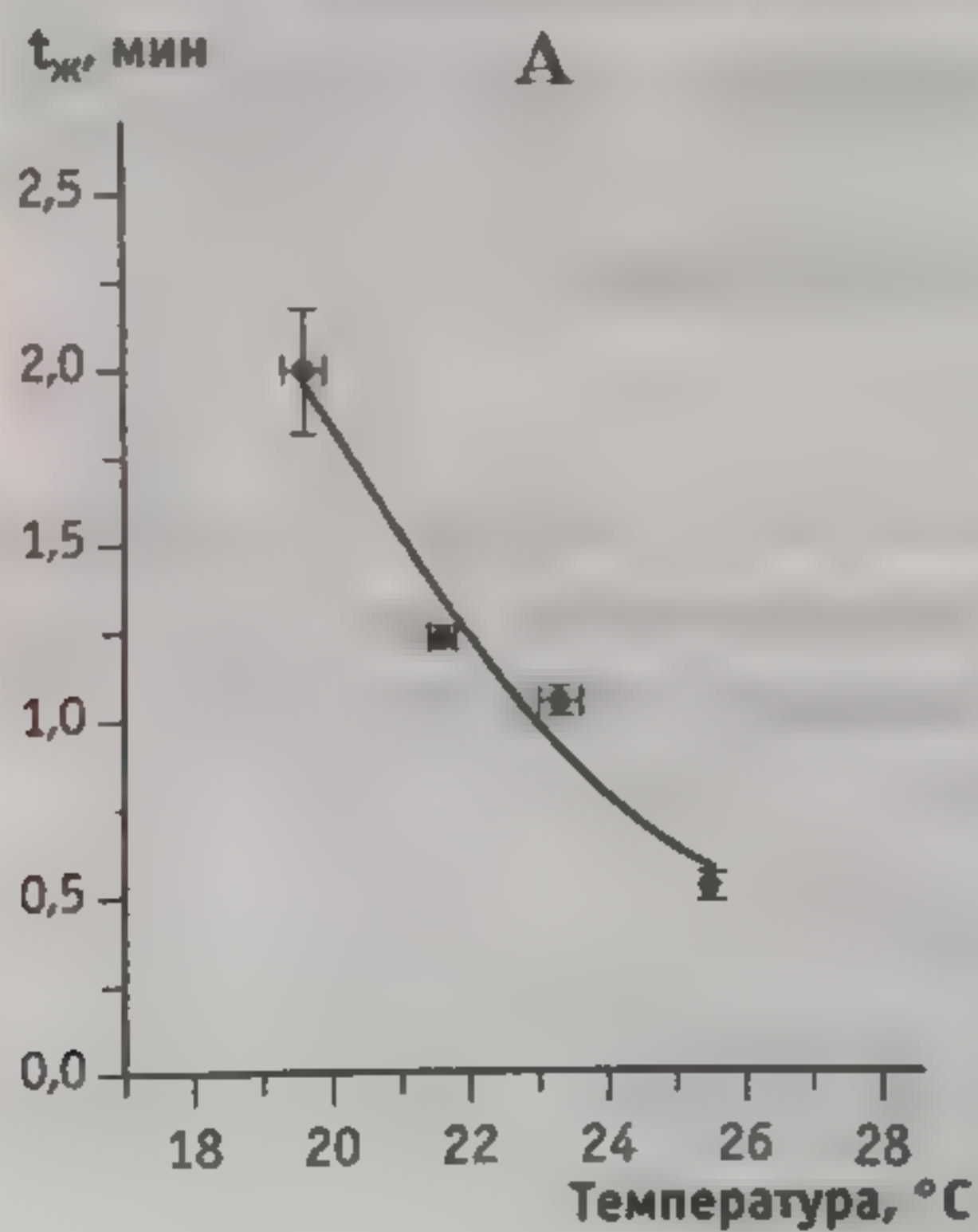
$$\operatorname{tg} \beta = -E_a/R.$$



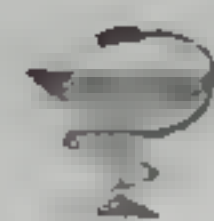


На графике «ордината» — это скорость гибели (величина, обратная времени жизни  $\frac{1}{t_{\text{ж}}}$ ), абсцисса — величина, обратная абсолютной температуре  $\left(\frac{1}{T}\right)$

2. Найдите и исправьте ошибку на графике В. Рассчитайте энергию активации процесса гибели *S. ambigua* при инкубации инфузории в 10% -ном р-ре диметилсульфоксида.







# V III. Лабораторная работа «Индивидуальная и комбинированная токсичность токсикантов разных химических классов с использованием инфузории *Spirostomum ambigua*»

## Задание 1

Постройте линейные зависимости  $\ln(1/t_{\text{ж}}) - 1000/T$  и по тангенсу угла наклона прямой к оси абсцисс рассчитайте энергию активации  $E_a$  гибели клетки при индивидуальных и комбинированных воздействиях органических кислот.

## Задание 2

Сравните полученные значения  $E_a$  для каждого конкретного токсиканта и при комбинированном действии (5 значений).

Значения времени жизни *S. Ambigua* в растворе гликолевой кислоты с концентрацией 4,5 ммоль/л при разной температуре:

Температура (T), °C	Время жизни ( $t_{\text{ж}}$ ), с
20,5	2883
23	643
25	294
27	192
29	89
31	81

Значения времени жизни *S. ambigua* в растворе ТХУ с концентрацией 3,5 ммоль/л при разной температуре:

Температура (T), °C	Время жизни ( $t_{\text{ж}}$ ), с
20,5	1010
23	493
25	208
27	115
29	95
31	67





## Занятие 9

Значения времени жизни *S. ambigua* в растворе фенола с концентрацией 3,04 ммоль/л при разной температуре:

Температура (Т), °С	Время жизни ( $t_{ж}$ ), с
21	145
23	109
25	82
27	66
29	41
31	25

Значения времени жизни *S. ambigua* при комбинированном действии гликолевой кислоты (10 ммоль/л) и ТХУ (5 ммоль/л):

Температура (Т), °С	Время жизни ( $t_{ж}$ ), с
23,5	79
25,5	49
28	38
30	31
32	25

Значения времени жизни *S. ambigua* при комбинированном действии гликолевой кислоты (10 ммоль/л) и фенола (5 ммоль/л):

Температура (Т), °С	Время жизни ( $t_{ж}$ ), с
24,5	63
27	42
29,5	30
31,5	25
33,5	22

Сделайте вывод о характере комбинированных воздействий по значениям рассчитанных значений  $E_a$ .

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 145—161.
3. Нагорный П.А. Комбинированное действие химических веществ и методы его гигиенического изучения. — М.: Медицина, 1984. — С. 5—171.



## ЗАНЯТИЕ

# 10

### МЕТОДОЛОГИЯ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

---

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар «Методология проведения химико-токсикологического анализа (ХТА). Направленный и ненаправленный ХТА. Вещественные доказательства. Методы подготовки вещественных доказательств для анализа. Основные этапы проведения ХТА».
- III. Лабораторная работа «Пробоподготовка и анализ вещественных доказательств отравления».

#### *Целевые задачи*

- научиться составлять план химико-токсикологического исследования;
- изучить стадии пробоподготовки биоматериалов;
- освоить способы пробоподготовки вещественных доказательств отравления;
- изучить структуру документов, которые заполняются при проведении ХТА;
- оформить акт/заключение эксперта-химика по результатам химико-токсикологического исследования вещественных доказательств.





## Краткое теоретическое введение

Химико-токсикологические исследования при отравлении токсическими веществами и их метаболитами (алкоголем и его суррогатами, наркотическими средствами, психотропными лекарственными средствами, органическими растворителями и другими веществами, вызывающими интоксикацию, включая токсичные метаболиты) проводятся в несколько этапов: отбор, транспортировка/хранение биологических объектов: подготовка образцов для анализа; качественный и количественный анализ.

Кровь для проведения химико-токсикологических исследований отбирается (см. приложение 10.1) из поверхностной вены одним из следующих способов:

— самотеком в сухой флакон с раствором гепарина (3—5 капель на каждые 10 мл крови). Отбирается 15 мл крови в два флакона объемами 30 и 5 мл. Флаконы закрываются стандартной резиновой пробкой, которая фиксируется алюминиевым колпачком. Содержимое флаконов сразу же перемешивается. Флаконы печатаются и направляются в ХТЛ для проведения химико-токсикологических исследований на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов. Флакон с 5 мл крови хранится как контрольный образец. Второй флакон с 10 мл крови (анализируемый образец) используется для проведения химико-токсикологических исследований;

— с использованием вакуумных пробирок (одноразовых устройств для ускоренного взятия крови с содержанием гепарина и иглами с двух концов — один конец вводится в вену, другим концом прокалывается резиновая мембрана пробирки). Отбирается 15 мл крови в две вакуумные пробирки по 5 мл и 10 мл (контрольный и анализируемый образцы), пробирки печатаются. Для химико-токсикологических исследований на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов обеспечивается доставка образцов крови в





ХТЛ не позднее двух суток после отбора. Кровь после отбора до момента отправки в ХТЛ хранится в холодильнике при температуре 0–2° С.

Кровь с сопроводительной документацией направляется в ХТЛ в укупоренных и опечатанных флаконах, вакуумных пробирках в специальном контейнере в сумке-холодильнике на транспорте медицинской организации в сопровождении медицинского работника, ответственного за доставку биологических объектов.

*Отбор мочи* производится в условиях, исключающих возможность замены или фальсификации биологического объекта (при освидетельствовании наркотического или алкогольного отравления). Моча собирается в стеклянный или пластмассовый градуированный сосуд с широким горлом объемом до 200 мл в количестве до 100 мл, но не менее 30 мл. Сосуд с мочой передается медицинскому персоналу; его накрывают покровной пластиной (крышкой). В течение первых 5 мин проводится предварительное исследование мочи, включающее определение следующих показателей: температуры стеклянным ртутным термометром (норма 32,5–37,7° С); рН с помощью универсальной индикаторной бумаги для определения рН мочи (норма рН = 4–8); относительной плотности (норма  $\rho = 1,008–1,025 \text{ г/см}^3$ ); содержания креатинина методом иммунной хроматографии (норма 4,4–17,7 ммоль/сут).

Если при предварительном исследовании выявляется несоответствие указанных показателей их нормам, проводится повторный отбор мочи. Результаты предварительного исследования фиксируются в соответствующей графе Журнала регистрации отбора биологических объектов (см. приложение 10.2).

После проведения предварительных исследований мочу делят на две части ( $1/3$  и  $2/3$  общего объема) и помещают их в два стеклянных или пластмассовых герметично закрывающихся контейнера объемом 100 мл каждый. Первый контейнер с меньшим количеством мочи хранится как контрольный образец. Вторым (анализируемый образец) используется для проведения химико-токсикологических исследований.





При направлении мочи для проведения химико-токсикологических исследований *на наличие алкоголя*, его суррогатов и метаболитов моча после разделения отбирается из контейнера с анализируемым образцом в чистый сухой флакон объемом 10 мл в количестве не менее 5 мл, закрывается резиновой пробкой, фиксируется алюминиевым колпачком и укупоривается под обкатку.

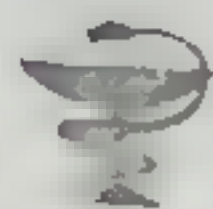
Для проведения химико-токсикологических исследований *на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию)*, и их метаболитов моча доставляется в ХТЛ не позднее двух суток после отбора и до отправки в ХТЛ хранится в холодильнике при температуре 0–2° С.

Отобранная моча с сопроводительной документацией доставляется в ХТЛ в укупоренных и опечатанных контейнерах в сумке-холодильнике на транспорте медицинской организации медицинским работником, ответственным за доставку биологических объектов.

*При отборе волос* их срезают ближе к коже ножницами с закругленными концами отдельно с лобной, теменной, затылочной, правой и левой височных областей волосистой части головы. При невозможности отбора волос с волосистой части головы (облысение) волосы срезаются с подмышечных впадин или лобковой области. Для проведения химико-токсикологических исследований отбирается не менее 300 мг волос. Отобранные образцы волос делят на две равные части, заворачивают в фольгу, каждая часть помещается в отдельный конверт с соответствующими надписями: контрольный и анализируемый образцы. Конверты опечатываются и хранятся в сухом месте при температуре 20–25° С до отправки в ХТЛ.

Для отобранных биологических объектов готовятся две *этикетки*, одна из которых предназначена для контрольного образца, другая — для анализируемого. На этикетках указываются штрих-код либо шестизначный код освидетельствуемого (для кодирования используется произвольный ряд чисел от 0 до 9, например 003841, 658097 и т.д.), дата и код





подразделения медицинской организации, в которой производится отбор биологических объектов. На этикетке контрольного образца после шестизначного кода либо штрих-кода освидетельствуемого ставится буква К (например 003841-К). Обратная сторона этикеток подписывается освидетельстуемым до указания на этикетках его штрих-кода либо шестизначного кода. Каждая этикетка крепится к флакону (пробирке, контейнеру и др.) клейкой лентой таким образом, чтобы исключить возможность подмены содержимого флакона без нарушения целостности этикетки. Место соединения концов ленты пломбируется и опечатывается с использованием штампа структурного подразделения медицинской организации, в которой проводился отбор биологических объектов. Подготовленные биологические объекты упаковываются в контейнер и с сопроводительной документацией помещаются в сумку-холодильник.

Контрольные образцы биологических объектов при поступлении в ХТЛ сразу же помещаются на хранение в запираемые или опечатываемые холодильные шкафы и хранятся при температуре не выше  $-18^{\circ}\text{C}$ . Срок хранения контрольного образца — 2 мес со дня поступления в ХТЛ. Если в течение этого срока отсутствовала необходимость в повторных химико-токсикологических исследованиях, то контрольный образец биологического объекта уничтожается. Анализируемые образцы биологических объектов при поступлении в ХТЛ хранятся в течение первых двух суток при температуре  $0-2^{\circ}\text{C}$ , далее — при температуре не выше  $-18^{\circ}\text{C}$  в запираемых или опечатываемых холодильных шкафах.

Правила проведения химико-токсикологического анализа включают обязательное оформление специального документа — «Направления на химико-токсикологические исследования» (см. приложение 10.3). В этом документе следует сообщать максимум подробностей: наименование медицинской организации и его структурного подразделения, выдавшего направление; фамилию, имя, отчество освидетельствуемого или пострадавшего и его возраст; дату и время отбора пробы и условия ее хранения; дату отправки биологических объектов в ХТЛ; предварительный клинический диагноз; цель химико-





токсикологических исследований. Следует обратить внимание химика-токсиколога, на обнаружение какого вещества (лекарственного средства) или группы веществ требуется провести исследования в первую очередь.

Справка о доставке биологических объектов на химико-токсикологические исследования подписывается руководителем ХТЛ. В справке указываются результаты осмотра биологических объектов заведующим ХТЛ, дата и время их доставки, и в случае несоответствия упаковки, несоблюдения условий хранения биологических объектов после отбора и при их транспортировке, при неправильном оформлении сопроводительной документации выявленные несоответствия фиксируются в соответствующем разделе (см. приложение 10.4).

План химико-токсикологического анализа определяется предварительным клиническим диагнозом или направлением врача «Скорой помощи». При *судебно-химическом исследовании* химик-эксперт ориентируется прежде всего на материалы дела, изложенные в постановлении органов дознания. Кроме того, во внимание принимаются данные других сопроводительных документов, выписки из истории болезни, акта вскрытия трупа и др.

**Осмотр и описание вещественных доказательств отравления.** Следует иметь в виду, что объекты ХТА представляют большую ценность для судебно-следственных органов, судебных медиков, врачей-токсикологов. Объекты ХТА отбираются для анализа на определенной стадии отравления, например на скрытой или токсикогенной, и поэтому представляют собой единичные экземпляры. Желудок, печень, почка, кровь, моча и любой другой трупный материал, так же как кровь, моча, рвотные массы, промывные воды желудка потерпевшего, не могут быть взяты для анализа повторно, на той же стадии отравления или в тот же момент после гибели человека. Для проведения судебно-химической экспертизы должно расходоваться не более  $1/3$  объекта, вторая треть материала может быть израсходована (при необходимости) для проверочного исследования и уточнения количественного определения. Оставшуюся треть материала необходимо вер-





нуть в учреждение, направившее материал на судебно-химическое исследование, или хранить в соответствии с приказом МЗ России от 24.04.03 № 161.

Как уже отмечалось, в химико-токсикологической лаборатории обязательно ведение *Журнала регистрации ХТА* (см. приложение 10.2). Журнал является *юридическим документом*. Страницы журнала должны быть пронумерованы и прошнурованы. В журнале отражается следующая информация: название, номер и дата сопроводительного документа к поступившему на анализ образцу; дата, номер анализа, фамилия и инициалы потерпевшего (освидетельствуемого); номер истории болезни; предполагаемый диагноз; название отделения лечебного учреждения; описание объекта исследования; цель исследования; время начала и окончания анализа; метод исследования; результат проведенного анализа; подпись химика-эксперта, выполнявшего анализ. При осмотре поступивших на анализ проб указывают растворитель (консервант), в который помещен доставленный образец; описывают внешний вид, фазовое состояние (кристаллическое, аморфное, жидкое), цвет, запах, вязкость, летучесть. При хранении пробы в консерванте дополнительно должна прилагаться его проба. Консервация формалином, глицерином, фенолом и другими веществами рассматривается как преступная халатность. Такое вещество, как формалин, само является ядом и входит в круг химического исследования при отравлениях. Кроме того, формальдегид вступает в реакции с такими токсикантами, как аммиак и циановодородная кислота; затрудняет обнаружение метанола (идентификация метанола включает реакцию превращения его в формальдегид) и ряда других веществ. При обнаружении неправильно выбранного консерванта необходимо составить акт с указанием его возможного влияния на результат химического анализа. Акт пересылают в организацию, направившую объекты в химическую лабораторию.

При описании запаха принимают во внимание, что *специфический запах* имеют ментол, метилсалицилат, камфора, ксероформ, некоторые витамины, формалин, бензин, керосин, ароматические и хлорированные углеводороды, эфиры





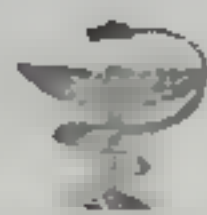
этиленгликоля, солод и другие вещества. Для фенолов характерен специфический фенольный запах. Ацетон, хлороформ имеют сладковатый запах. Для алифатических спиртов характерен спиртовой, а для их эфиров — фруктовый запах. Кислоты — азотная, соляная, хлорная, уксусная, трихлоруксусная, муравьиная — вызывают раздражение слизистой оболочки дыхательных путей. Гидриды фосфора теллура, мышьяка и других р-элементов имеют чесночный запах.

Фиалковый запах мочи наблюдается при отравлении скипидаром. Запах ацетона — при отравлении изопропанолом, ацетоном. Следует помнить, что запах ацетона характерен для мочи больных сахарным диабетом.

Окраска исследуемого объекта также помогает в предварительной идентификации вещества, вызвавшего отравление. Вещественные доказательства желтого цвета — это производные нитрофурана, нифедипин, но-шпа, нистатин, меркаптопурин, антибиотики группы тетрациклина, тавегил, леворин, риванол, пикриновая кислота и др. Желто-оранжевую окраску имеют витамин  $B_2$ , фолиевая кислота, калия дихромат. Желто-зеленая окраска характерна для рутина, зеленая — для бриллиантового зеленого, для кобаламина — розовая, рубомицина — красного. Красный цвет с коричневатым оттенком характерен для ферроцерона. Калия перманганат имеет красно-фиолетовую окраску. Кристаллы йода окрашены в темно-фиолетовый цвет с характерным металлическим блеском, растворы йода имеют темно-коричневую окраску.

В ходе визуального осмотра *содержимого желудка* отмечают его цвет. Пурпурная или розовая окраска содержимого может быть связана с отравлением перманганатом калия. При отравлении солями меди содержимое желудка пострадавшего окрашено в зеленый или голубой цвет, солями никеля — в зеленый, солями кобальта — в розовый цвет. Окрашивание содержимого желудка в желтый цвет позволяет предположить отравление азотной или пикриновой кислотой. Кислоты серная, соляная, щавелевая придают исследуемому материалу цвет кофейной гущи, а йод — сине-коричневое окрашивание.





Красно-коричневый цвет мочи имеет при отравлении производными пиразола, фенотиазина. Фенол и метиленовая синь меняют цвет мочи на зелено-синий, а фенацетин, рибофлавин, производные нитрофурана, пикриновая кислота — на желтый.

После визуального осмотра мочи проводят *предварительные хромогенные реакции* (цветные тесты) с отдельными ее порциями (см. приложение 10.5). В случае отрицательного результата дальнейшее исследование на необнаруженные группы токсикантов не проводят.

Необходимо отметить, что, кроме лекарственных веществ, в некоторые лекарственные формы входят вспомогательные вещества, консерванты, стабилизаторы. Они могут мешать определению основных токсикантов, что иногда приводит к ошибочным заключениям.

**Подготовка биопробы к анализу.** Идентификации токсиканта (качественному анализу) и его количественному определению предшествует *пробоподготовка*, включающая *изолирование* (извлечение) яда, отделение мешающих проведению анализа компонентов биопробы, концентрирование определяемых веществ. При проведении ХТА возникают трудности, связанные с низким содержанием определяемого вещества на фоне большого количества эндогенных веществ — белков, пептидов, липидов, углеводов, стероидов, пигментов и др. Поэтому основная задача этого этапа анализа — снизить до минимума содержание фоновых веществ и добиться максимально возможного концентрирования определяемых веществ.

Пробоподготовка является наиболее трудоемким этапом анализа и содержит главные источники ошибок его результата. Пробоподготовка должна выполняться очень аккуратно и последовательно с учетом дальнейшего метода идентификации и количественного определения яда.

*Пробоподготовка тканей различных органов* включает несколько стадий. Полученные для анализа почка, части печени, мозга, кишки, лоскуты кожи и др. необходимо измельчить. Измельчение до размера частиц  $0,5-2\text{ см}^2$  можно проводить ножницами; растиранием в ступке с песком, стеклом, солями; с помощью ножевых гомогенизаторов или современных высокоскоростных турбин — ультратураксов. Обработ-





ка биоматериалов ультразвуком приводит к разрушению структурной целостности клеток и их мембранных структур.

*Лиофилизация*, или обезвоживание, проводится с использованием обезвоживающих веществ (натрия сульфата, глицерина) под вакуумом в эксикаторах или с помощью лиофильных сушек (сублимационное высушивание замороженного материала под вакуумом). *Замораживание* осуществляется при температуре  $-5$  —  $-15^{\circ}\text{C}$ .

*Депротеинирование* биоматериала, удаление белков, возможно при обработке его этанолом (абсолютным или 96%-ным) — фрагмент метода Стаса—Отто, органическими растворителями (ацетоном или ацетонитрилом) — фрагмент «ацетонового метода», кислотами (соляной, хлорной, трихлоруксусной и др.), солями (вольфраматами, сульфатами, нитратами, фосфатами, хлоридами и др.). Возможно проведение ферментативного депротеинирования.

*Удаление липидов из биоматериала* проводят экстракцией органическими растворителями, методом колоночной хроматографии или препаративной ТСХ; сепарацией липидов, вымораживанием исследуемых образцов.

Таким образом, при пробоподготовке достигается нарушение целостности ткани и клеточных структур, обеспечивается обезвоживание, отделение белков и липидов, что приводит к последующему более полному изолированию определяемых веществ и их концентрированию в анализируемой пробе. Эти предварительные операции снижают *пределы обнаружения и количественной оценки* (см. занятие 11) токсичного вещества в биопробе.

Изолирование токсического вещества из биоматериала чаще всего проводят *жидкостной экстракцией*. Теоретические основы этого метода подробно рассмотрены в учебнике (см. с. 62–74, 162–167) и практикуме (см. занятие 5). Распределение токсического вещества между двумя фазами в первую очередь зависит от его липофильности/гидрофильности, определяемой степенью ионизации, являющейся функцией pH жидких фаз. Количественно жидкость-жидкостная экстракция может быть оценена коэффициентом распределения ксенобиотика между органической и водной фазами.



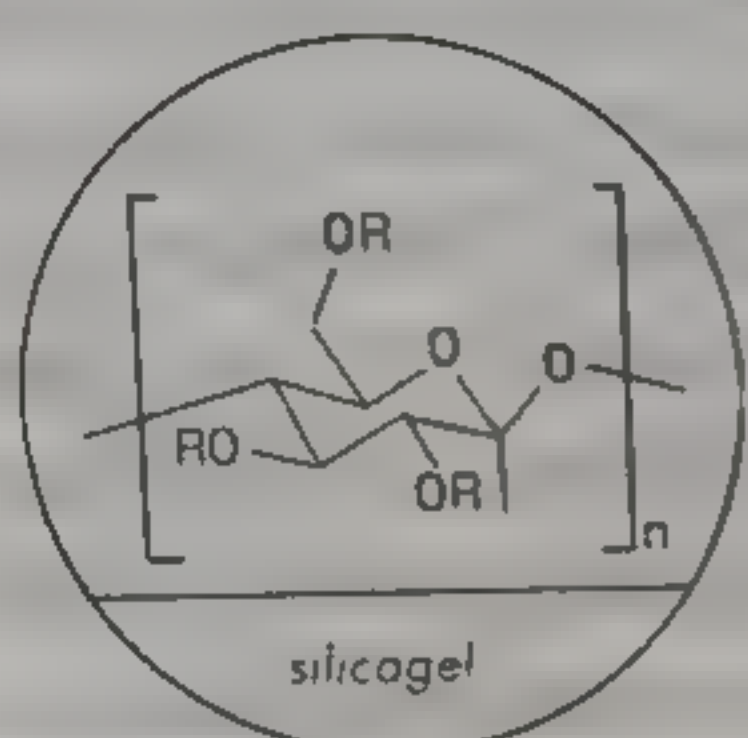
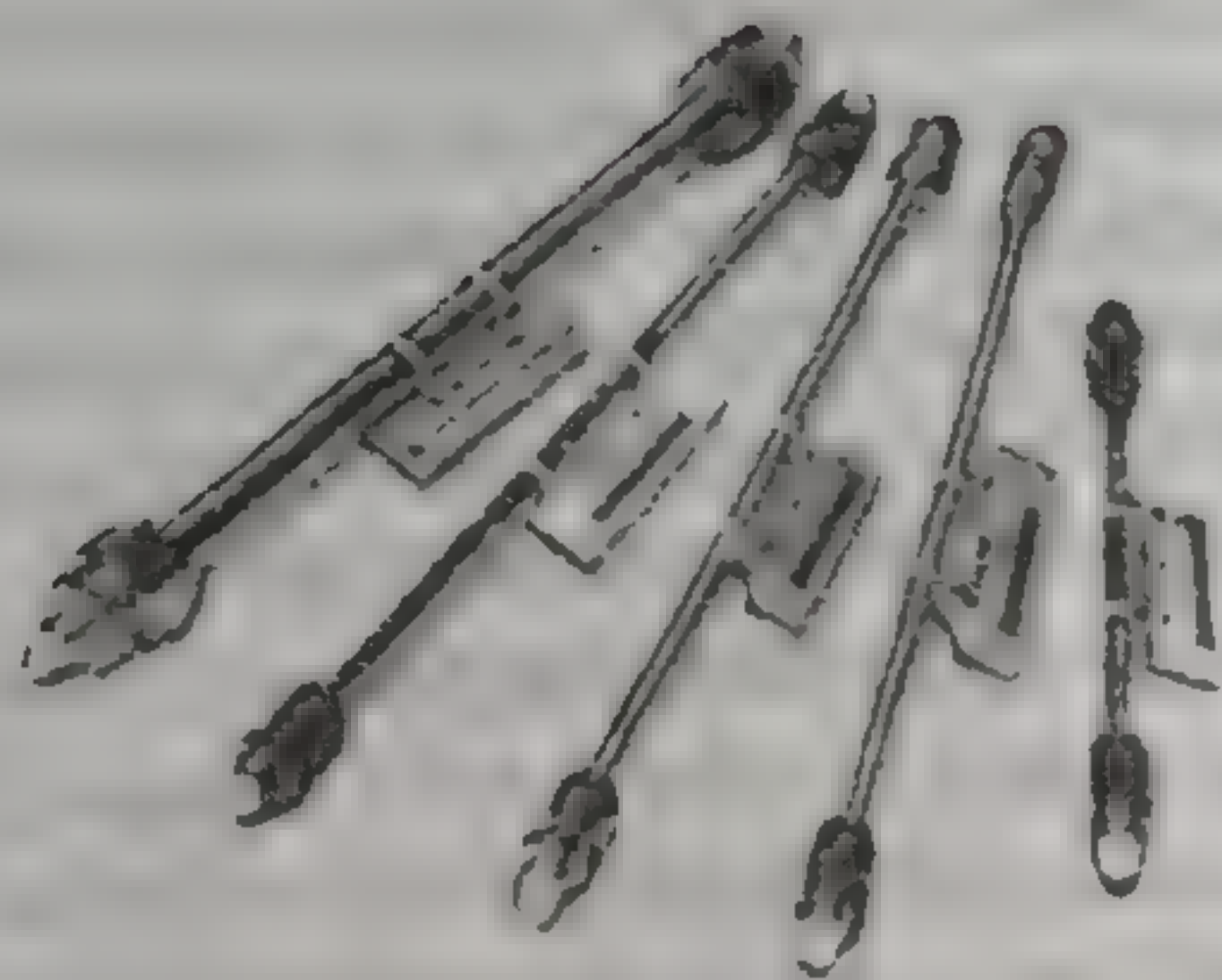
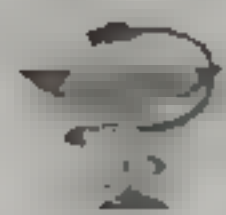
Именно поэтому в химико-токсикологическом и судебно-химическом анализе традиционно используют многостадийную экстракцию органическими растворителями токсикантов кислотной и основной природы при различных значениях pH, с последующей реэкстракцией водными растворами с низкими и высокими значениями pH.

Например, при жидкость-жидкостной экстракции мочи для изолирования предположительно содержащихся в ней соединений с гетероциклическим атомом азота (органические основания) отдельные ее порции смешивают с органическими растворителями при разных значениях pH среды. Щелочное извлечение исследуют на наличие ксенобиотиков основной природы — производных бензо=1,4=дiazепина, морфина, кодеина и др. Полученные экстракты испаряют на часовых стеклах. Сухие остатки рассматривают визуально и под микроскопом. Каждый из остатков исследуют методом хроматографии в тонком слое (ТСХ), в том числе в системах, предложенных Международным комитетом, по систематическому токсикологическому анализу; выполняют цветные тесты; проводят анализ с использованием спектральных методов.

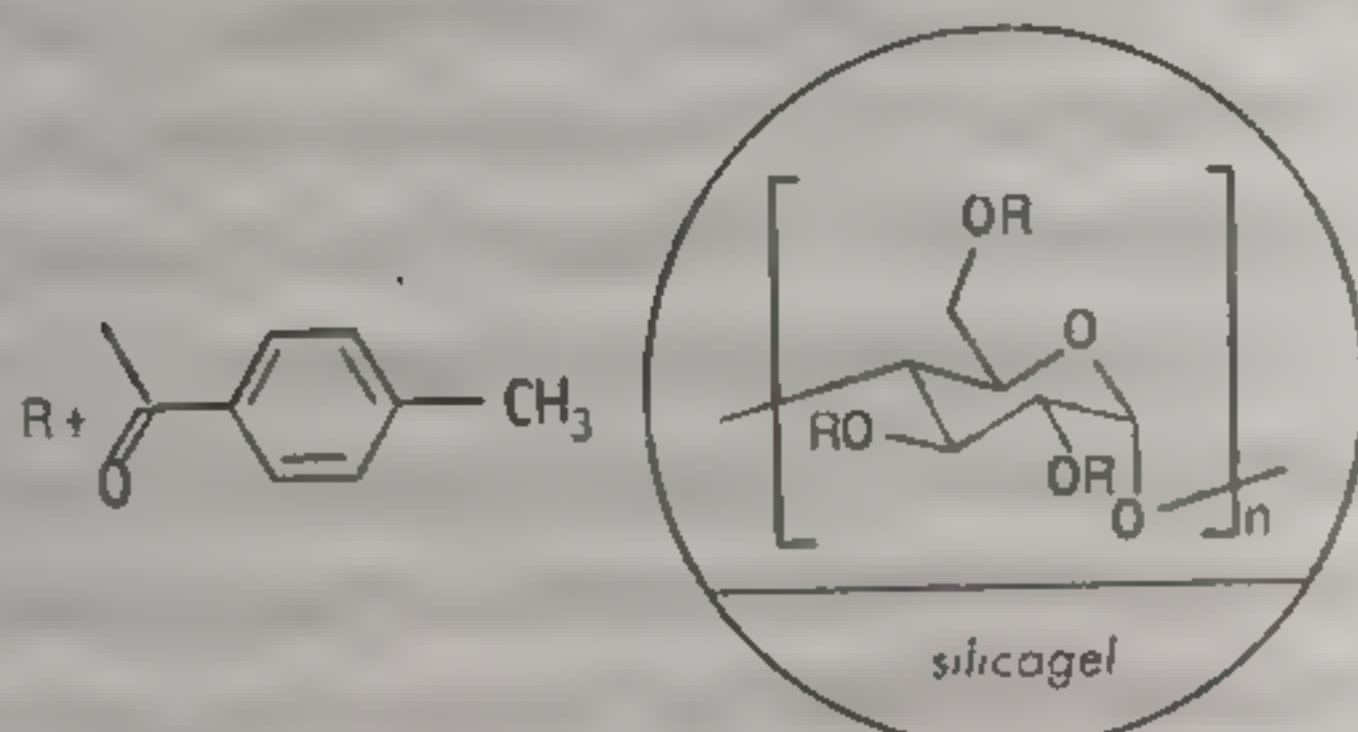
Для определения летучих ядов, например органических растворителей, применяют *парофазную экстракцию* — перевод определяемого вещества в газовую фазу. Такой метод изолирования применяется при использовании метода ГЖХ. Широкое распространение получил метод *твердофазной экстракции* — адсорбции токсического вещества на твердом сорбенте с последующим элюированием растворителем (рис. 10.1). Развитие этого метода достигло такого совершенства, что позволяет разделять на специфических сорбентах энантимеры органических веществ, в том числе лекарственных, отличающиеся по своим биологическим эффектам.

В качестве вещественных доказательств в химико-токсикологическую лабораторию могут быть также направлены *таблетки лекарственных веществ, растения, порошки и жидкости неизвестного происхождения*. Правила их осмотра, подготовки для анализа, предварительные аналитические тесты, рекомендуемые методы анализа представлены в приложении 10.6.

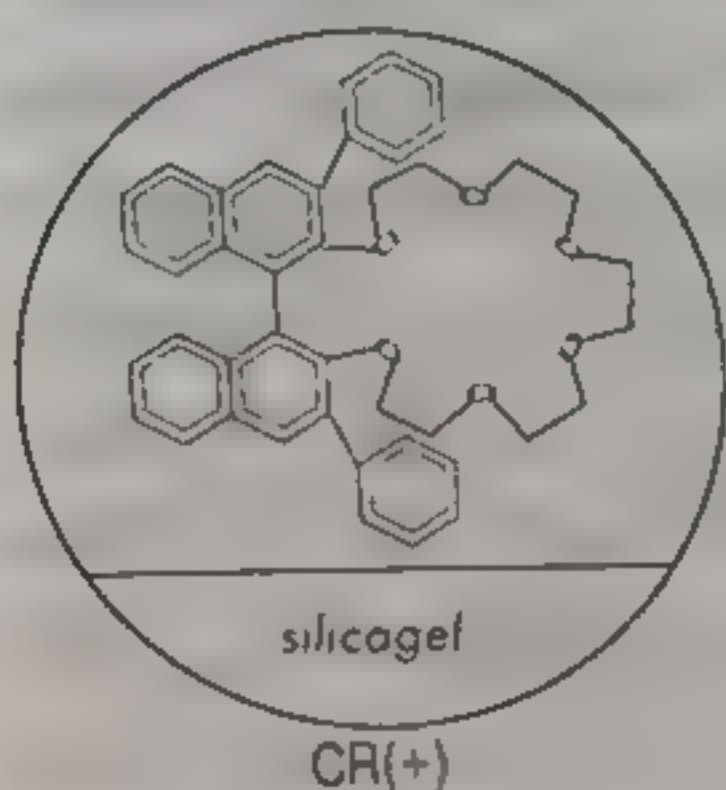
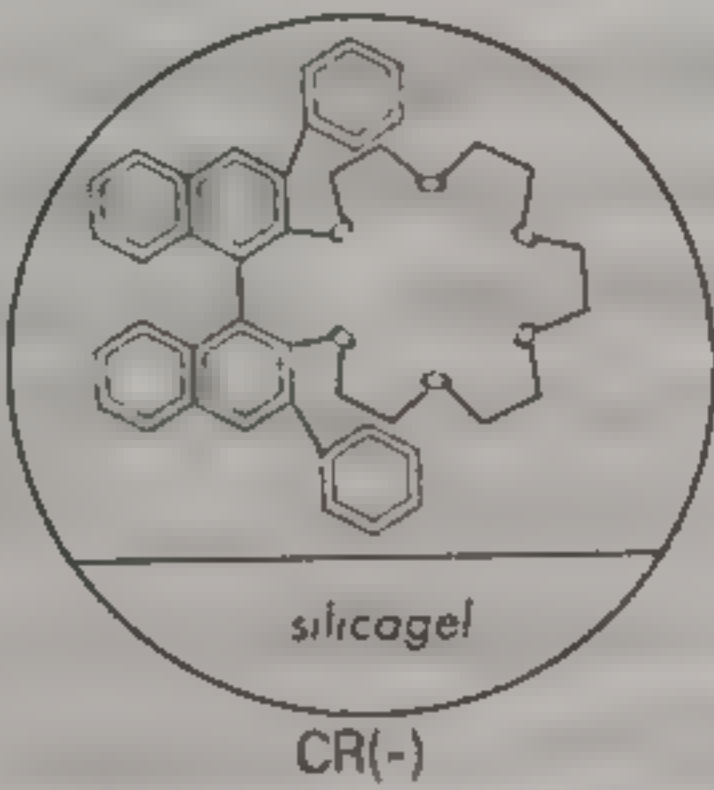




Амилозные нормально-фазные колонки



Целлюлозные нормально-фазные колонки

Краун-эфирные хиральные  
HPLC-колонки

CR(-)

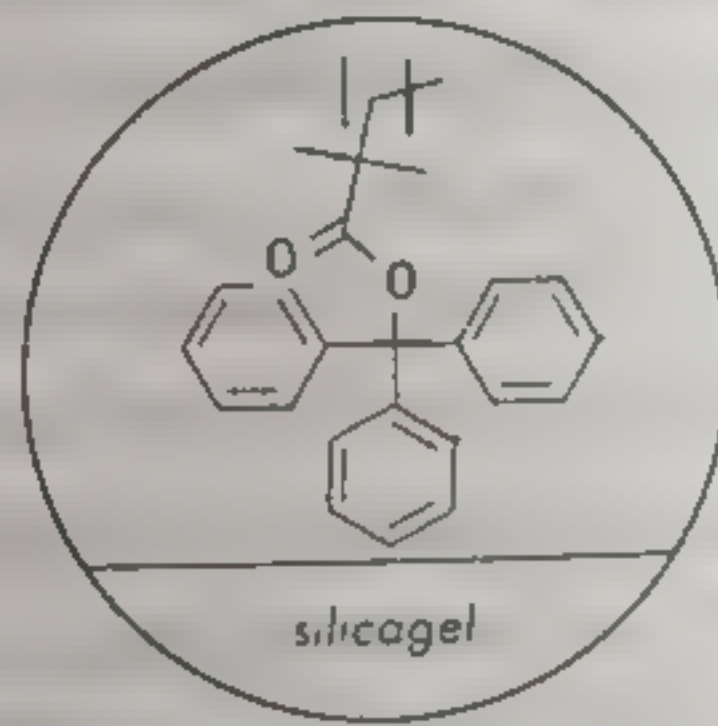
Полиметакрилатные хиральные  
HPLC-колонки

Рис. 10.1. Современные типы хроматографических колонок:  
а — селекторов (адсорбентов);  
б — используемых при разделении и анализе энантиомерных смесей

**Регистрация и документальное оформление результатов ХТА.** После проведения химико-токсикологических исследований оформляется Справка о результатах химико-токсикологических исследований (см. приложение 10.7). Она готовится специалистом ХТЛ, проводившим химико-токсикологические исследования. В справке указывают:

наименован  
мер химико  
вующий но  
рации резу  
ний»; дату  
специалист  
ские исслед  
логические  
ем структу  
производи  
направлен  
или постра  
вания указ  
(иммунохро  
зационный  
фия) и подт  
фические:  
опиатов, ка  
лойной хр  
высокоэфф  
масс-спектр  
тодов в со  
ского объе  
алкоголя,  
средств),  
(групп вещ  
ние обнару  
трация в м  
Если ис  
что указан  
жены (на  
ных резул  
предварит  
одним или  
тельных р  
пись, что





наименование химико-токсикологической лаборатории; номер химико-токсикологического исследования, соответствующий номеру, зарегистрированному в «Журнале регистрации результатов химико-токсикологических исследований»; дату проведения исследований, фамилию, инициалы специалиста ХТЛ, проводившего химико-токсикологические исследования; номер направления на химико-токсикологические исследования с датой его выдачи и наименованием структурного подразделения медицинской организации, производившего отбор биологического объекта и выдавшего направление; фамилию и инициалы освидетельствуемого или пострадавшего и его возраст. В строке Методы исследования указывают использованные предварительные методы (иммунохроматографический, иммуноферментный, поляризационный флуороиммуноанализ, тонкослойная хроматография) и подтверждающие методы (спектральные, хроматографические: специализированные системы для обнаружения опиатов, каннабиноидов, бензодиазепинов на основе тонкослойной хроматографии, газожидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, хромато-масс-спектрометрия). Не допускается указание названий методов в сокращениях. Необходимо указать тип биологического объекта (кровь, моча, слюна и др.). При обнаружении алкоголя, его суррогатов, наркотических средств (групп средств), психотропных и других токсических веществ (групп веществ) и их метаболитов указываются наименование обнаруженных веществ (средств), их массовая концентрация в мкг/мл, мкг/г, мг/мл.

Если искомые вещества не обнаружены, делается запись, что указанные в направлении вещества (средства) не обнаружены (на уровне предела обнаружения). При положительных результатах химико-токсикологических исследований предварительными методами проводится их подтверждение одним или двумя подтверждающими методами. При отрицательных результатах подтверждающих методов делается запись, что указанные в направлении вещества (средства) не





обнаружены на уровне предела обнаружения используемого метода.

При положительных результатах подтверждающих методов делается запись, что указанные в направлении вещества (средства) обнаружены на уровне предела обнаружения используемых методов, а при необходимости указывается их концентрация.

Результаты проведенного исследования оформляют на бланке «Акта судебно-химического исследования» (см. приложение 1.5), если материалы на экспертизу направлял судебно-медицинский эксперт. Если экспертиза проводилась на основании постановления органов дознания, то составляется «Заключение эксперта». В этих документах, как и в Справке о результатах химико-токсикологических исследований (см. приложение 10.4), указывают: номер анализа; фамилию и инициалы потерпевшего (освидетельствуемого); вид доставленного на анализ объекта (кровь, моча и т.д.); дату и время доставки объекта; цель исследования; заключение по результатам исследования; подпись химика-эксперта, выполнявшего анализ; даты выполнения анализа и составления документа.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

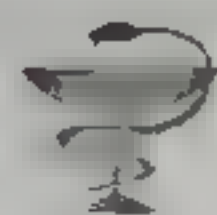
1. *Последовательное определение в биологическом материале веществ разных классов носит название:*

- a) направленный анализ
- b) ненаправленный анализ

2. *На основании первичного клинического диагноза отравления проводят:*

- a) направленный анализ
- b) ненаправленный анализ





### 3. Выберите соответствия:

Объекты ХТА	Основание для производства ХТА
1. Внутренние органы	а) постановление следователя
2. Ткани трупа	б) постановление органов дознания
3. Смывы с поверхности кожи	в) направление врача
4. Волосы	г) акт судебно-химического исследования
	д) копия истории болезни

### 4. Срок проведения экспертизы:

- а) 15 суток;
- б) 30 суток;
- в) сутки;
- г) 24 часа.

### 5. К пробоподготовке относят следующие операции:

- а) изолирование токсиканта;
- б) изолирование биологического материала;
- в) измельчение биологического материала;
- г) вымораживание липидов;
- д) депротенинирование.

### 6. При проведении ХТА в первую очередь необходимо освоить методики определения:

- а) алкоголя и его суррогатов;
- б) алкалоидов;
- в) соединений металлов;
- г) снотворных и психотропных лекарственных средств;
- д) фосфорорганических инсектицидов;
- е) концентрированных кислот и щелочей.

### 7. При осмотре вещественных доказательств отмечают:

- а) цвет;
- б) запах;
- в) вкус;
- г) внешний вид.





## 8. Найдите соответствия:

Токсикант	Запах
1. Ментол	а) миндальный
2. Бензин	б) раздражающий
3. Фенолы	с) фенольный
4. Хлороформ	д) сладковатый
5. Эфиры алифатических спиртов	е) чесночный
6. Ацетон	ф) фруктовый
7. Уксусная кислота	г) специфический
8. Мышьяк	
9. Синильная кислота	

## 9. Найдите соответствия:

Токсикант	Цвет
1. Но-шпа	а) желто-оранжевый
2. Калия дихромат	б) темно-фиолетовый
3. Витамин B <sub>2</sub>	с) черно-коричневый
4. Рутин	д) зеленый
5. Витамин B <sub>12</sub>	е) розовый
6. Ферроцерон	ф) красно-коричневый
7. Калия перманганат	г) желтый
8. Йод	

## 10. Найдите соответствия:

При прокаливании появление запаха	Наличие в пробе
1. Жженого сахара	а) углеводов
2. Жженого волоса	б) йода
3. Аммиака	с) белков
4. Выделение паров	д) соединений мочевины

## 11. Н

Операция

1. Изме
2. Лиофи
3. Депро
4. Удале

## 12. Н

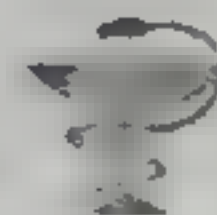
- 1)  $MnO_4^-$
- 2)  $Cu^{2+}$
- 3)  $Ni^{2+}$
- 4)  $Co^{2+}$
- 5)  $HNO_3$
- 6) Пикри
- 7)  $I_2$
- 8)  $H_2SO_4$

V II. С  
хим  
(ХТ  
ХТА  
Мет  
дока  
Осно

Вопросы

1. Пер  
(ХТА).
2. Оха
3. В че





### 11. Найдите соответствия:

Операция пробоподготовки при ХТА	Способы выполнения
1. Измельчение	а) экстракция органическими растворителями
2. Лиофилизация	б) гомогенизирование
3. Депротенирование	в) вымораживание образца
4. Удаление липидов	г) обезвоживание
	д) добавление сульфата натрия
	е) обработка этанолом
	ж) добавление хлорной кислоты
	з) сепарация

### 12. Найдите соответствие:

Токсикант	Цвет содержимого желудка
1) $\text{MnO}_4^-$	а) голубой или зеленый
2) $\text{Cu}^{2+}$	б) вид кофейной гущи
3) $\text{Ni}^{2+}$	в) пурпурный или розовый
4) $\text{Co}^{2+}$	г) сине-бурый
5) $\text{HNO}_3$	д) зеленый
6) Пикриновая кислота	е) розовый
7) $\text{I}_2$	ж) желтый
8) $\text{H}_2\text{SO}_4$ конц.	

## V II. Семинар «Методология проведения химико-токсикологического анализа (ХТА). Направленный и ненаправленный ХТА. Вещественные доказательства. Методы подготовки вещественных доказательств для анализа. Основные этапы проведения ХТА»

### Вопросы и задачи для обсуждения на семинаре

1. Перечислите задачи химико-токсикологического анализа (ХТА).
2. Охарактеризуйте стадии ХТА.
3. В чем отличие направленного и ненаправленного анализа?





4. Причины появления ложноположительных и ложноотрицательных результатов анализа.

5. Имеются ли различия при проведении химико-токсикологического и судебно-химического анализа?

6. Какой документ обязан заполнить специалист, проводящий судебно-химическую экспертизу?

7. Опишите особенности ХТА при исследовании жидкости неизвестного состава.

8. Опишите особенности ХТА при исследовании порошка неизвестного состава.

9. Опишите особенности ХТА при исследовании таблеток неизвестного состава.

10. Опишите особенности ХТА при исследовании объектов растительного происхождения.

11. Опишите особенности ХТА при исследовании биологических жидкостей и трупного материала.

12. В отделение острых отравлений г. N был доставлен ребенок с подозрением на отравление таблетками, в состав которых входили тропановые алкалоиды. Предложите схему ХТА крови и мочи ребенка.

13. В химико-токсикологическое отделение регионального центра по лечению острых отравлений доставлены кровь и моча пожилой женщины с неизвестным отравлением. Предложите схему ХТА крови и мочи.

14. В судебно-химическую лабораторию доставлен трупный материал для проведения ХТА (неизвестный яд, ненаправленный анализ). Каковы действия химика-эксперта?

### **V III. Лабораторная работа**

#### **«Пробоподготовка и анализ вещественных доказательств отравления»**

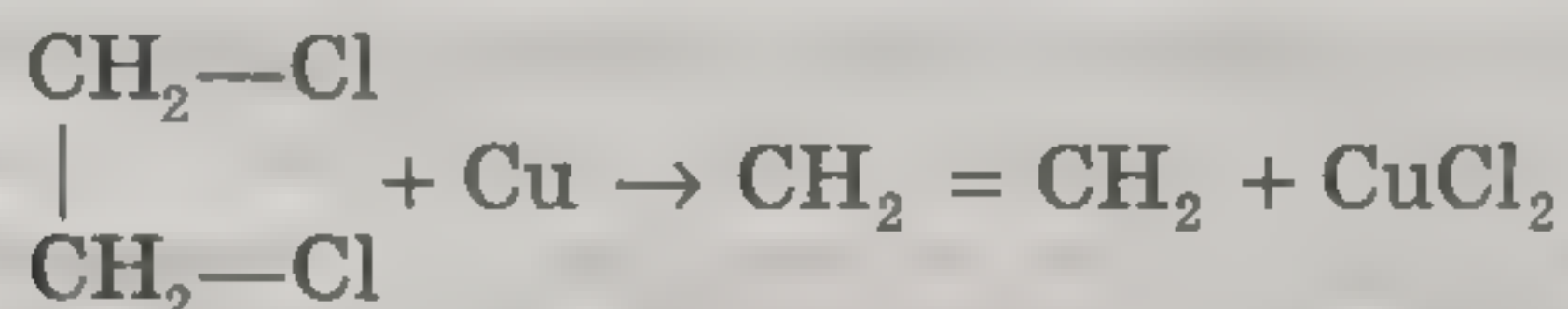
На анализ в судебно-химическую лабораторию г. N доставлены вещественные доказательства отравления: органические растворители, неизвестные порошки, таблетки — целиком или раскрошенные, ампулы с растворами, измельченные растения, моча пострадавшего. Каждое вещественное доказательство помещено в стеклянный флакон, закупоренный и пронумерованный.



Проведите визуальный осмотр и описание доставленных на анализ вещественных доказательств. Осуществите все возможные в учебной лаборатории этапы подготовки проб для анализа и предварительные испытания, включая описанные ниже, а также методики из приложений 10.5 и 10.6.

**Проба Бельштейна.** Основана на образовании окрашенных в зеленый цвет галогенидов меди при внесении в бесцветное пламя медной проволоки с галогенсодержащим органическим соединением:

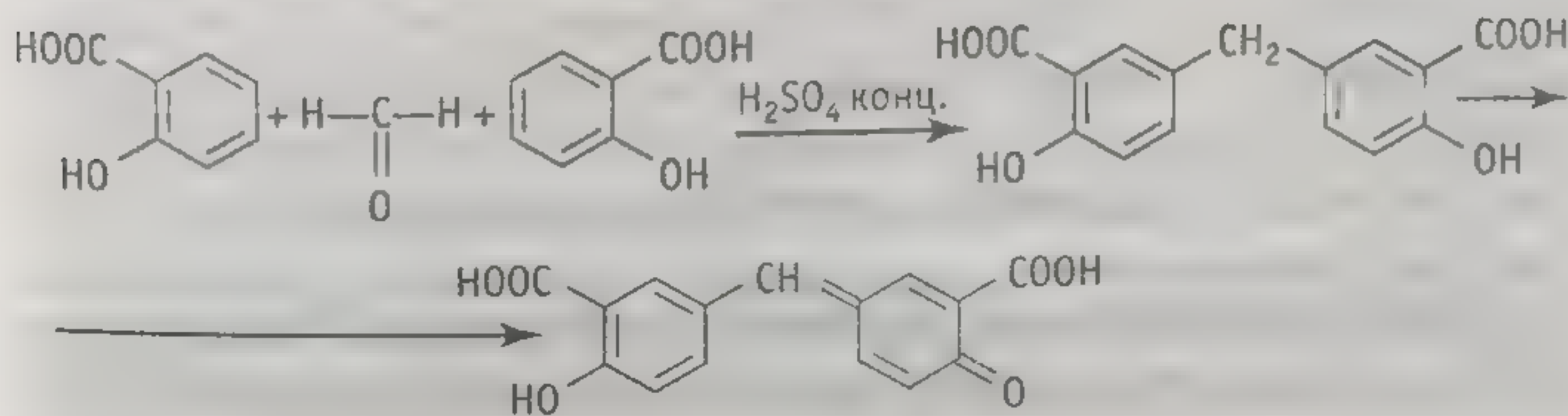
ToC



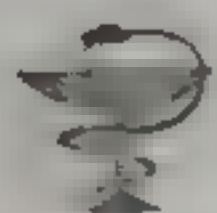
**Методика.** На конце медной проволоки делают петлю и прокалывают ее в пламени спиртовки до красного каления.

Остывшую проволоку смачивают исследуемой жидкостью, например дихлорэтаном, и вновь вносят в пламя спиртовки: хлорированные углеводороды окрасят пламя в зеленый цвет; ароматические углеводороды горят со вспышкой коптящим пламенем.

**Проба с реактивом Марки.** В выпарительную чашку к капле реактива Марки (формальдегид в концентрированной серной кислоте) добавляют каплю исследуемой жидкости. При наличии в пробе ароматических углеводородов появляется красное окрашивание:

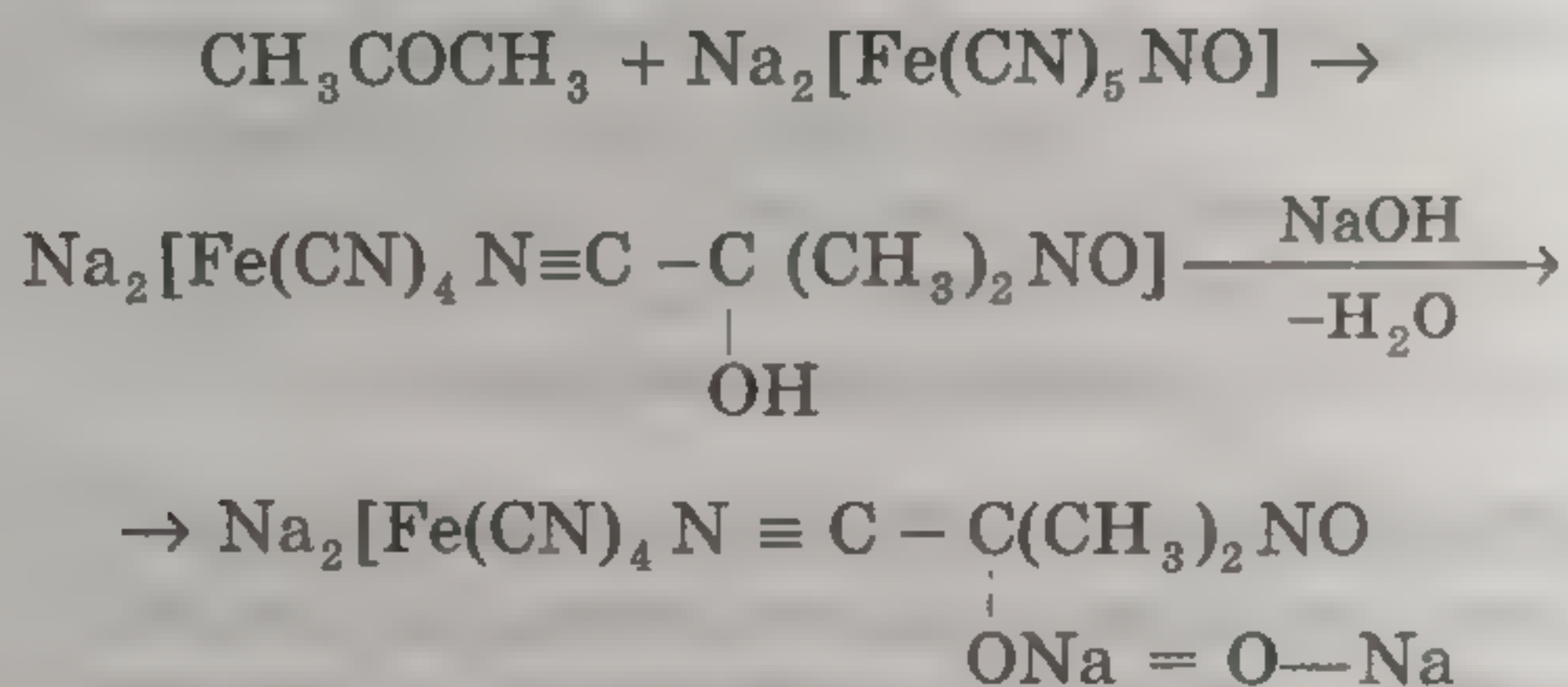






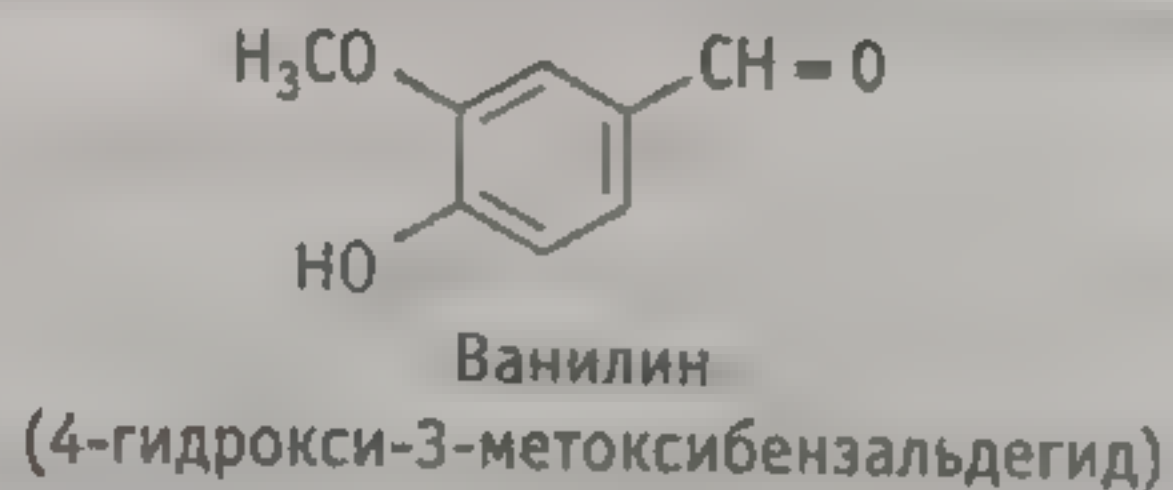
**Проба Легалья.** Применяется для обнаружения ацетона в моче (в клинической практике — при сахарном диабете). Готовят сухой реактив — смесь порошков нитропруссид натрия, натрия карбоната, аммония сульфата.

**Методика.** Смочить 0,5 г сухого реактива 1–2 каплями воды и нанести на него 1–2 капли исследуемой жидкости. При наличии в пробе ацетона порошок окрашивается в розово-сиреневый цвет. Появление окраски связано с образованием нового лиганда — 2-гидроксипропанонитрила — продукта взаимодействия цианид-иона и ацетона. При добавлении капли раствора NaOH (2 моль/л) появляется красное окрашивание за счет ионизации 2-гидроксипропанонитрила в щелочной среде:



**Проба с ванилином** (1 г ванилина растворяют в 99 г концентрированной серной кислоты). На несколько капель жидкости в пробирке наслаивают 0,5 мл реактива, затем по стенке пробирки приливают 1 мл воды. При наличии в пробе алифатических спиртов или их эфиров содержимое пробирки приобретает цвет от желто-зеленого до розово-сиреневого.

Обсудите возможные структуры окрашенных продуктов реакции с ванилином:



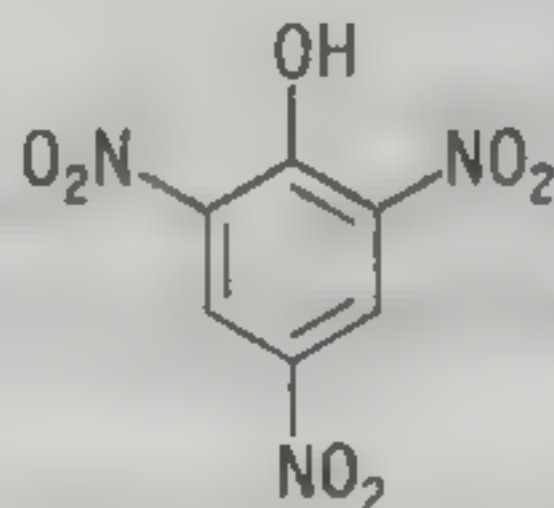
**Проба с пикриновой кислотой.** Встряхивают 1 мл жидкости с несколькими кристаллами пикриновой кислоты. Пик-



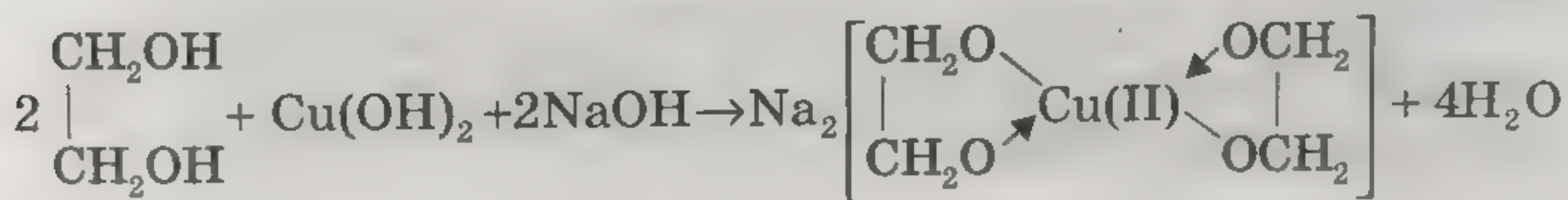


риновая кислота не растворяется в органических растворителях алифатического ряда и растворяется в растворителях ароматического ряда.

Объясните причину различной растворимости, принимая во внимание структуру пикриновой кислоты:



**Проба с 5% -ным р-ром сульфата меди.** В пробирку вносят 10 капель 5% -ного р-ра  $\text{CuSO}_4$  и 10 капель 10% -ного р-ра  $\text{NaOH}$ . Добавляют 10 капель исследуемой жидкости, разбавленной в три раза водой. В присутствии гликолей осадок  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  растворяется, а жидкость окрашивается в интенсивно синий цвет (образование комплексного аниона):



**Отличие двухатомных спиртов от трехатомных.** Добавьте к 1 мл испытуемой жидкости несколько кристаллов йода. Интенсивно встряхните. В глицерине йод нерастворим, а в гликолях растворим.

По результатам экспертизы заполните «Акт судебно-химического исследования» (см. приложение 1.5).

**Регистрация и документальное оформление результатов ХТА.** Результаты проведенного исследования оформляют на бланке «Акта судебно-химического исследования» (см. приложение 1.5), если материалы на экспертизу направлял судебно-медицинский эксперт. Если экспертиза проводилась на основании постановления органов дознания, то составляется «Заключение эксперта». В документах указывают: номер анализа; фамилию и инициалы потерпевшего; вид доставленного на анализ объекта (кровь, моча и т.д.); дату и время доставки объекта; цель исследования; заключение по





результатам исследования; подпись химика-эксперта, выполнявшего анализ; даты выполнения анализа и составления документа.

## Литература

1. Плетенева Т.В., Сыроешкин А.В., Гормонов С.Ю. и др. Итоги 15-го Международного симпозиума «Фармацевтический и биомедицинский анализ» // Химико-фармацевтический журнал. 2005. — № 8. Т. 39.
2. Материалы лекций.
3. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. С. 162–182.
4. Назаров Г.Н., Макаренко Т.Ф. Методы спектрального анализа в судебной медицине. М.: МНПП ЭСИ, 1994. 360 с.
5. Основы аналитической токсикологии / Фланаган Р.Дж. и соавт. — Женева: Всемирная организация здравоохранения, 1997. С. 72–76.
6. Маркова И.В., Афанасьев В.В., Цыбульский Э.К. и др. Клиническая токсикология детей и подростков. Ч. 1–2. — СПб.: ИНТЕРМЕДИКА, 1999.

ВАЛИ  
ХАРА  
АНАЛ

Структ

I. В  
II. Л  
ра  
р

Целевы

— и  
м  
— за  
т  
и

Кратк

Анал  
кологич  
(метроло  
обеспеч  
последу  
Вали  
тода ана



## ЗАНЯТИЕ

# 11

### ВАЛИДАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

---

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторно-практическое занятие «Статистическая обработка результатов количественного анализа биоматериалов и вещественных доказательств».

#### *Целевые задачи*

- изучить нормативную базу по валидации аналитических методов;
- закрепить знания по статистической обработке результатов анализа при решении химико-токсикологических и судебно-химических задач.

#### *Краткое теоретическое введение*

Аналитические методы, используемые в химико-токсикологических исследованиях, должны быть валидированы (метрологически аттестованы). Валидация метода анализа обеспечивает отсутствие систематической ошибки при его последующем использовании.

Валидация (validation), метрологическая аттестация метода анализа, — это лабораторная оценка степени пригодности





сти аналитических методов. Валидацию проводят, используя стандартные образцы, например образцы аналитических наркотических средств и психотропных веществ (см. приложение 11.1).

Процесс валидации регламентируют:

— ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 «Точность (правильность и прецизионность) результатов измерений». Ч.1-6;

— ОСТ 91500.13.0001-2003 «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов».

Валидация аналитического метода предполагает его оценку по следующим показателям:

— точность = (правильность — accuracy, trueness) + (прецизионность — precision);

— прецизионность = (сходимость, повторяемость — repeatability) + (воспроизводимость — reproducibility);

— специфичность — specificity, селективность — selectivity;

— предел обнаружения — limit of detection;

— предел количественного определения — quantitation limit;

— линейность — linearity.

Приведенные англоязычные названия показателей валидации необходимы для исключения неоднозначности при использовании терминов в отечественной и зарубежной литературе.

Валидация аналитического метода оформляется в виде документа, в котором должны быть представлены:

— обоснование выбора метода с подтверждением его приемлемости для соответствующего вида испытаний, а также доказательства его преимуществ, если метод планируется для замены ранее существовавшего;

— полное описание методики выполнения испытания, обеспечивающее его воспроизводимость специалистом, включая параметры и условия выполнения всех аналитических процедур, тесты на пригодность системы, меры предосторожности, расчетные формулы;





— экспериментальные результаты и рассчитанные параметры валидации.

**Правильность** аналитического метода характеризует близость результатов испытаний, полученных данным методом, к истинному значению. Показателем правильности метода обычно является значение систематической погрешности. Систематическая погрешность выражается как разность между математическим ожиданием результатов измерений и истинным (или в его отсутствие — принятым опорным) значением.

**Прецизионность** аналитического метода характеризует степень близости независимых результатов индивидуальных испытаний, полученных в конкретных установленных условиях. Эта характеристика зависит только от случайных факторов и не связана с истинным значением измеряемой величины. Она выражается величиной стандартного отклонения. Экстремальные показатели прецизионности — сходимость (повторяемость) и воспроизводимость.

**Сходимость (повторяемость)** характеризует степень согласованности результатов измерений (испытаний), полученных одним и тем же методом на идентичных объектах испытаний, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования, в пределах короткого промежутка времени. Для оценки сходимости (повторяемости) результатов измерений определяют относительное стандартное отклонение.

**Воспроизводимость** оценивается при различных условиях:

— **каждодневная воспроизводимость** — тестирование проводят разные аналитики, в разные дни, на разных сериях стандартных образцов, с разными растворами стандартов, на разном оборудовании;

— **межлабораторная воспроизводимость** — тестирование проводится двумя или несколькими лабораториями при одинаковых условиях.

**Специфичность, селективность** аналитического метода определяется его способностью достоверно определять токсикант в присутствии примесных соединений.





**Предел обнаружения** выражается минимальным содержанием определяемого вещества в образце, которое может быть обнаружено данным методом. Одним из способов определения предела обнаружения является определение концентрации, соответствующей отношению сигнал-шум, равному трем.

**Предел количественной оценки** — это минимальное количество определяемого вещества, которое может быть оценено количественно с приемлемой правильностью и прецизионностью. Это характеристика методов количественного определения малых содержаний веществ в образце (например, примесей или продуктов деградации). Предел количественного определения выражается как концентрация анализируемого вещества в образце (в %, ppm). При этом для шести последовательных измерений относительное стандартное отклонение не должно превышать 20%.

**Линейность** устанавливается на основании результатов испытаний, которые пропорциональны концентрации анализируемого вещества в образце в пределах аналитической методики. Линейность результатов может быть представлена графически в виде зависимости аналитических сигналов от концентрации вещества (не менее 5). Для подтверждения линейности аналитической методики применяют следующие параметры: коэффициент регрессии, угол наклона линии регрессии.

После того как лабораторное оборудование прошло валидационные испытания, его можно использовать для определения токсичных веществ в биоматериалах и вещественных доказательствах. *Получаемые при анализе результаты должны быть метрологически оценены (статистически обработаны).* Их статистическая обработка заключается в расчете ряда метрологических параметров. При оптимальном объеме выборки ( $n \geq 5$ ) определяют:

— среднее значение определяемой величины

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n};$$





— случайное отклонение  $i$ -й варианты от среднего

$$d_i = x_i - \bar{x};$$

— дисперсию  $V (s^2)$ , показывающую рассеяние вариантов относительно среднего

$$V = \frac{\sum d_i^2}{f} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1};$$

— стандартное отклонение (или среднее квадратичное отклонение)  $s$

$$s = \sqrt{V} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}};$$

— стандартное отклонение среднего

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{V}{n}};$$

— относительное стандартное отклонение

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}}.$$

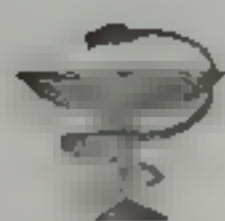
Дисперсия  $V$ , стандартное отклонение  $s$  и стандартное отклонение среднего  $s_{\bar{x}}$ , относительное стандартное отклонение  $s_r$  характеризуют воспроизводимость анализа. Чем меньше их значения, тем лучше воспроизводимость анализа.

Далее определяют доверительный интервал среднего, т.е. интервал значений определяемой величины, в котором с заданной доверительной вероятностью  $P$  (например, 0,95 или 0,99) находится действительное значение определяемой величины  $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ . Полуширину доверительного интервала находят по формуле:

$$\Delta\bar{x} = \frac{t_{P,f} \cdot s}{\sqrt{n}},$$

где  $t_{P,f}$  — коэффициент Стьюдента, зависящий от доверительной вероятности  $P$  и числа степеней свободы  $f = n - 1$  (см. приложение 11.2).





Окончательно результат может быть представлен в виде относительной ошибки среднего результата

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\%.$$

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. *Дайте определение понятия «валидация»:*

- a) процедура подтверждения соответствия, посредством которой независимая от изготовителя (продавца, исполнителя) и потребителя (покупателя) организация удостоверяет в письменной форме, что методика анализа соответствует установленным требованиям;
- b) процесс лабораторного изучения степени пригодности аналитических методов;
- c) определение степени близости независимых результатов индивидуальных испытаний, полученных в конкретных установленных условиях;
- d) процесс изучения способности аналитического метода достоверно определять токсичное вещество в биоматериале.

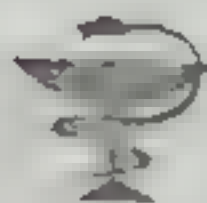
2. *Валидации подвергаются аналитические методы, используемые для:*

- a) идентификации сильнодействующих лекарственных веществ;
- b) идентификации тяжелых металлов;
- c) количественного определения любого ксенобиотика;
- d) количественного содержания остаточных органических растворителей в лекарственных средствах.

3. *Оценку метода анализа при валидации проводят по следующим характеристикам:*

- a) точность;
- b) правильность;





- c) прецизионность;
- d) селективность;
- e) линейность.

**4. Случайные ошибки анализа:**

- a) характеризуют воспроизводимость анализа;
- b) можно оценить методами математической статистики;
- c) могут быть устранены.

**5. Систематическая ошибка:**

- a) характеризует правильность результатов;
- b) это статистически значимая разность между средним  $\bar{x}$  и действительным  $a$  значением содержания определяемого вещества;
- c) может быть выявлена при использовании стандартных образцов, метрологически аттестованных методов или методом добавок.

**6. Прецизионность включает в себя оценку:**

- a) точности;
- b) повторяемости;
- c) сходимости;
- d) предела обнаружения;
- e) воспроизводимости.

**7. Специфичность метода анализа оценивают по:**

- a) линейности;
- b) пределу обнаружения;
- c) пределу количественного определения;
- d) воспроизводимости.

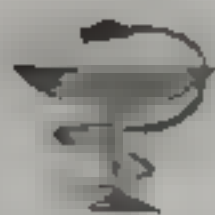
**8. Надежность аналитического метода определяется:**

- a) степенью воспроизводимости;
- b) правильностью;
- c) степенью сходимости;
- d) линейностью метода.

**9. По формуле  $s = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$  рассчитывают:**

- a) правильность;
- b) случайную погрешность;





- с) систематическую погрешность;
- д) точность.

10. Найдите соответствия:

Критерий оценки качества выполняемых лабораторных исследований	Сущность критерия
1. Повторяемость	а) степень близости результата истинному значению
2. Воспроизводимость	б) минимальное содержание искомого компонента
3. Правильность	с) степень близости друг к другу независимых результатов единичного анализа, полученных по одной и той же методике, на одних и тех же пробах, в одинаковых условиях и практически одновременно
4. Точность	д) степень близости друг к другу независимых результатов анализа, полученных по одной и той же методике, на одних и тех же пробах, в различных условиях
5. Предел обнаружения	е) степень близости среднего значения из серии результатов единичного анализа к истинному значению

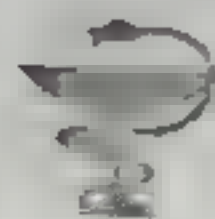
## V II. Лабораторно-практическое занятие «Статистическая обработка результатов количественного анализа биоматериалов и вещественных доказательств»

Подготовьте ответ по индивидуальной карточке заданий для участия в семинаре, используя вспомогательный материал

### Образцы задач, входящих в карточки индивидуального задания

1. Описан случай смерти 31-летней женщины после нанесения ей незначительных телесных повреждений. Хроматографическим методом в крови погибшей были обнаружены





ацетальдеид, этанол и метронидазол. В акте судебно-химического заключения было указано, что смерть наступила из-за сердечной недостаточности в связи с передозировкой метронидазола в комбинации с этанолом. Рассчитайте дисперсию  $V\%$  по экспериментальным данным, полученным при определении метронидазола в крови:

№	1	2	3	4	5	6	7
X, мкг/л	420	450	425	430	438	421	440

2. Рассчитайте относительное стандартное отклонение результатов определения ртути в суточной моче рабочего, полученных методом атомно-абсорбционной спектрометрии с холодным паром при судебно-химическом исследовании после воздействия паров ртути в условиях производства (в норме содержание ртути в моче не должно превышать 20 мкг/л):

№	1	2	3	4	5
X, мкг/л	93,6	95,3	92,4	90,9	94,2

3. Рассчитайте относительную ошибку среднего результата при судебно-химическом исследовании цельной крови человека, который при попытке суицида ввел внутримышечно 40 мл металлической ртути (в норме содержание ртути в крови  $< 8$  мкг/л). Результаты получены методом атомно-абсорбционной спектрометрии с холодным паром после предварительной кислотной минерализации пробы крови в тefлоновых «бомбах» в микроволновой печи:

№	1	2	3	4	5
X, мкг/л	61,4	59,3	62,1	58,6	59,8

4. Через 18 суток после попытки суицида в моче человека был обнаружен таллий (метод атомной абсорбции с графитовой кюветой; предварительная минерализация в открытой системе кислотами-окислителями; норма таллия в моче 0,05–1,69 мкг/л).





Рассчитайте полуширину доверительного интервала среднего результата при доверительной вероятности  $P = 0,95$ .

№	1	2	3	4	5
X, мкг/л	204,4	205,3	204,8	204,7	205,1

По каждой задаче сделайте вывод о воспроизводимости полученных результатов.

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 182–186.
3. Харитонов Ю.Я., Григорьева В.Ю. Примеры и задачи по аналитической химии. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — С. 8–46.
4. Арзамасцев А.П., Садчикова Н.П., Харитонов Ю.Я. Валидация аналитических методов // Фармация. — 2006. — № 4. — С. 8–12.



## ЗАНЯТИЕ

# 12

### СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

---

#### *Структура занятия*

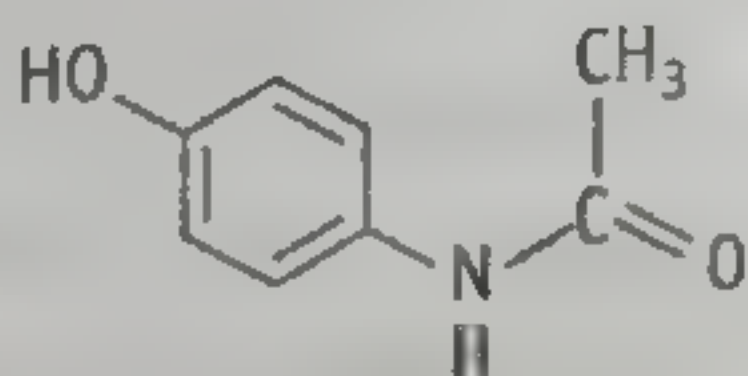
- I. Входной тест.
- II. Семинар «Токсикологическая характеристика парацетамола. Спектрофотометрический анализ».
- III. Лабораторная работа «Химико-токсикологический анализ таблеток, найденных на месте происшествия (на примере парацетамола)».

#### *Целевые задачи*

- освоить принципы, лежащие в основе спектрального анализа;
- научиться идентифицировать токсичные вещества по УФ- и ИК-спектрам;
- научиться проводить химико-токсикологическое определение неизвестных лекарственных средств (ЛС), найденных на месте происшествия.

#### *Краткое теоретическое введение*

Парацетамол — N-(4-гидроксифенил)-ацетамид (n-ацетаминифенол):







Применяется в медицинской практике в качестве анальгезирующего, жаропонижающего и слабого противовоспалительного средства. Механизм действия основан на ингибировании синтеза простагландинов, в результате чего уменьшается возбудимость центра терморегуляции гипоталамуса. Частота отравления жаропонижающими и нестероидными противовоспалительными средствами составляет примерно 12%. Парацетамол в этой группе лекарственных средств является наиболее часто употребляемым, в том числе и в педиатрии. Суточная доза может достигать 4 г. Органы-мишени токсического действия парацетамола — печень и почки. Кроме того, токсические дозы парацетамола вызывают поражение кроветворной системы (развитие анемии, агранулоцитоза, тромбоцитопении) (см. приложение 12.1).

Парацетамол проявляет слабые кислотные свойства ( $pK_a = 9,38$ ), вследствие своей липофильности быстро всасывается из ЖКТ. Время  $t_{max}$  достижения максимальной концентрации  $C_{max}$  в крови составляет около часа. Определение парацетамола в плазме при передозировке можно проводить и через 4 ч после отравления, что связано с увеличением периода его полувыведения  $t_{1/2}$  при повреждении печени токсическими дозами лекарственного вещества. Токсические концентрации парацетамола в плазме выше 50 мкг/мл ( $> 300$  мкмоль/л) указывают на острое отравление и высокую вероятность гепатотоксического действия.

#### Токсико-динамические и токсико-кинетические характеристики парацетамола

Токсическая концентрация в крови (через 4 ч), мкг/мл	$> 50$
Биодоступность, %	100
Доля выведения с мочой, %	4–6
Степень связывания с белками, %	25–50
Период полувыведения, $t_{1/2}$ , ч	1–4

В лечебных дозах парацетамол биотрансформируется на 94% с образованием полярных сульфатов и глюкуронидов, которые выводятся с мочой. Около 4% парацетамола окисляются (цитохром P450) и связываются с глутатионом. При передозировке в печени накапливаются токсичные продукты окисления, вызывающие некроз ее клеток.



При тяжелом отравлении у 10–40% больных наблюдается острый некроз паренхимы почек, вызываемый действием метаболита — *n*-аминофенола, образующегося при деацетилировании парацетамола.

### Спектральные методы анализа

Спектральные методы анализа основаны на взаимодействии вещества с электромагнитным излучением, в результате которого происходит избирательное поглощение молекулой определяемого вещества энергии света (см. приложение 12.2).

*Спектрофотометрия в ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях спектра.* Поглощение света молекулами органических соединений в УФ (200–400 нм) и видимой (400–800 нм) областях обуславливает возникновение электронных спектров (перемещение электронов со связывающих  $\sigma$ - и  $\pi$ -, несвязывающих *n*- на разрыхляющие  $\sigma^*$ - и  $\pi^*$ -молекулярные орбитали). Спектр поглощения представляет собой зависимость интенсивности поглощения (*A*) от длины волны ( $\lambda$ ).

В основе спектрофотометрических измерений и расчетов лежит закон, характеризующий зависимость поглощения монохроматического излучения от толщины поглощающего слоя и концентрации анализируемого раствора (закон Бугера–Ламберта–Бера), который можно представить в экспоненциальной форме

$$I = I_0 \cdot e^{-kc}$$

или в логарифмической форме

$$A = \lg(I_0/I) = \epsilon lc,$$

где  $I_0$  — интенсивность светового потока, проходящего через светопоглощающую среду;

$I$  — интенсивность светового потока, прошедшего через эту среду;

$k$  — коэффициент светопоглощения;

$c$  — концентрация раствора;

$l$  — толщина поглощающего слоя;

$A = \lg(I_0/I)$  — абсорбция (*поглощение*), которую также называют *экстинкцией*;

$\epsilon = k/2,3$  — молярный коэффициент экстинкции ( $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ).





Численно молярный коэффициент экстинкции равен абсорбции при концентрации анализируемого раствора  $c = 1$  моль/л и толщине поглощающего слоя  $l = 1$  см.

Если концентрацию раствора выразить в граммах растворенного вещества, содержащегося в 100 мл раствора, то коэффициент пропорциональности в уравнении обозначится как  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  — *удельный коэффициент поглощения*.

Молярный и удельный коэффициенты поглощения связаны между собой соотношением:  $\epsilon = E \cdot M / 10$ , где  $M$  — молярная масса растворенного вещества.

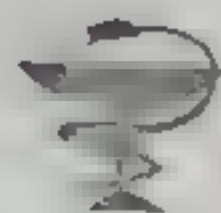
При проведении фотометрических измерений в видимой области спектра предварительно проводят фотометрическую реакцию, подбирают аналитическую длину волны (соответствующую максимуму поглощения в спектре анализируемого вещества), концентрацию анализируемого раствора, толщину поглощающего слоя и готовят раствор сравнения («нулевой» раствор). Раствор сравнения представляет собой либо чистый растворитель, либо растворитель, содержащий все те же компоненты и в тех же количествах, что и анализируемый раствор, за исключением определяемого вещества. Фотометрические измерения целесообразно проводить в интервале изменения поглощения  $A$  от 0,2 до 0,8, в соответствии с этим подбирают концентрацию раствора. Так как минимальная систематическая ошибка получается при  $A = 0,434$  и  $l = 1$  см, то концентрация должна быть примерно равна  $c = 0,434/\epsilon$ .

Концентрацию вещества в анализируемом растворе находят на основании результатов фотометрических измерений различными методами: *градуировочного графика; добавок стандарта; одного стандарта*.

*Инфракрасная спектрофотометрия* дает информацию о валентных и деформационных колебаниях атомов и молекул при поглощении света в интервале от 0,76 до ~1000 мкм (см. приложение 12.3). Колебания связанных атомов в молекуле подразделяются на два основных типа:

- валентные — ритмичные колебания вдоль оси связи между атомами в молекуле;
- деформационные — колебания с изменением валентных углов связи между атомами в молекуле.





Инфракрасные спектры могут быть получены для различных агрегатных состояний веществ и используются для идентификации, количественного определения, а также для исследования строения молекул.

Каждый инфракрасный спектр характеризуется серией полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом (длиной волны) и интенсивностью максимумов поглощения. Обычно при записи спектра на оси абсцисс откладывается в линейной шкале значение волнового числа ( $\text{см}^{-1}$ ), на оси ординат — величина светопропускания  $T$  (%).

Подготовку образцов к снятию инфракрасных спектров проводят по следующим методикам.

### 1. Твердые вещества:

а) пасты: тщательно смешивают 10–20 мг твердого вещества с 1–2 каплями иммерсионной жидкости (вазелиновое масло, полифторуглеводород, гексахлорбутадиен и др.); приготовленную пасту сдавливают между двумя дисками из KBr (или KCl) и помещают в спектрофотометр для измерения. Во второй канал прибора помещают слой иммерсионной жидкости между дисками из KBr (или KCl);

б) диски из KBr: навеску твердого вещества (1–3 мг) тщательно смешивают в вибромельнице или ступке со спектроскопически чистым бромидом калия (150–200 мг) и смесь прессуют. Спектр полученного образца получают относительно воздуха или диска, приготовленного из чистого KBr, помещенного во второй канал прибора.

### 2. Жидкие вещества

Тонкую пленку жидкости зажимают между дисками из NaCl (или KBr) или используют кюветы с малой толщиной слоя (0,01–0,05 мм). Во второй канал прибора помещают чистый диск из NaCl (или KBr) удвоенной толщины или пустые кюветы.

### 3. Растворы

Раствор исследуемого образца (жидкого или твердого) в подходящем органическом растворителе (обычно используемые концентрации приблизительно 0,5–1,5%) вводят в кювету из KBr (или KCl) с толщиной слоя 0,1–1 мм. Спектр раствора снимают относительно чистого растворителя. В ка-





честве растворителей наиболее часто применяют четыреххлористый углерод и хлороформ.

Идентификация лекарственного вещества может быть проведена путем сопоставления ИК-спектра исследуемого вещества с аналогичным спектром его стандартного образца или с его стандартным спектром. В этом случае ИК-спектры снимают последовательно на одном и том же приборе в одинаковых условиях (агрегатное состояние образца, концентрация вещества, скорость регистрации и т.п.).

### Парацетамол

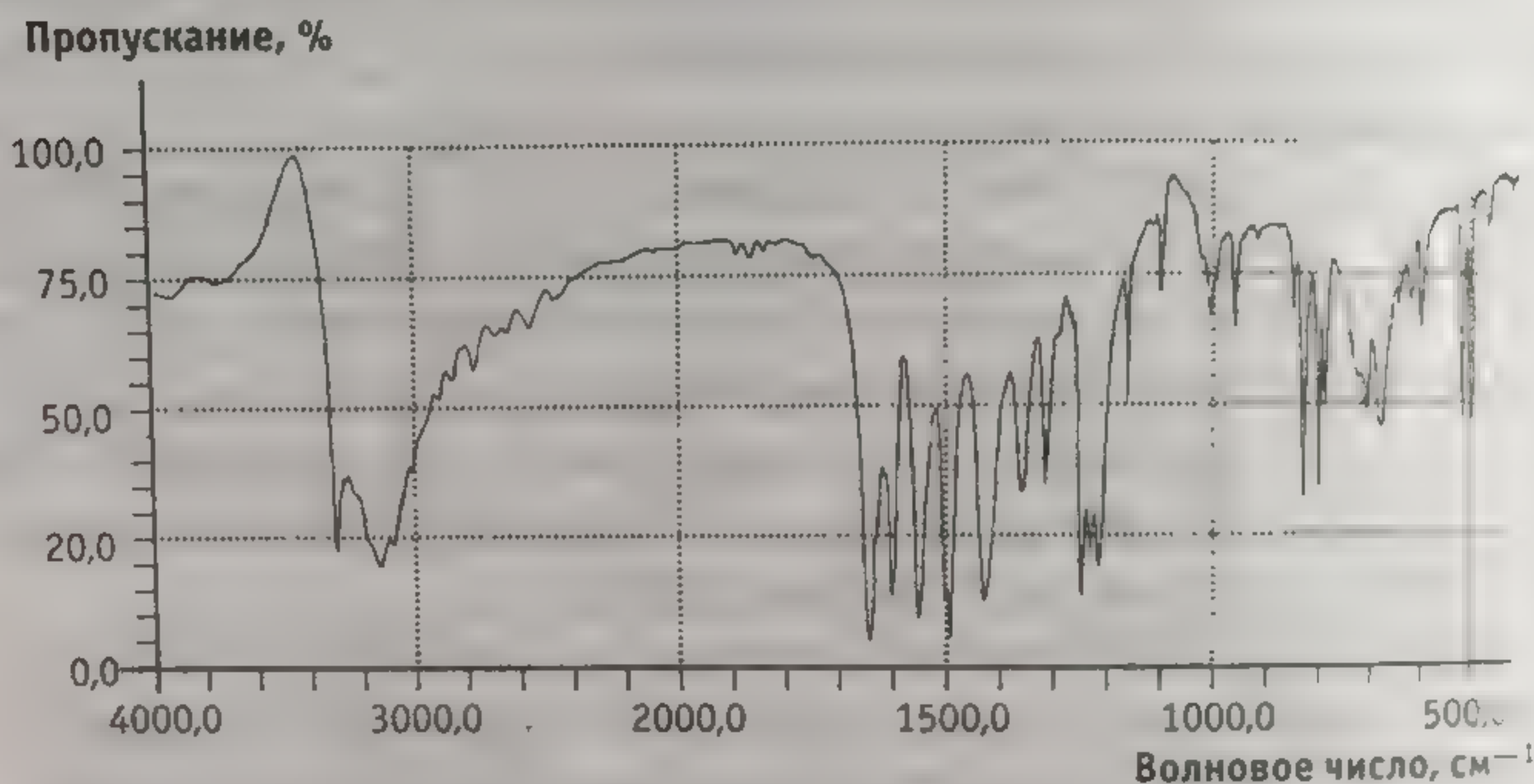


Рис. 12.1. ИК-спектр субстанции парацетамола.  
Приготовление образца: метод диска с калия бромидом

## V I. Входной тест

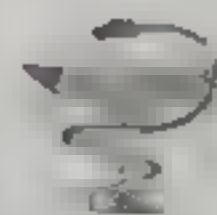
### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. Закон Бугера–Ламберта–Бера характеризует зависимость между поглощением:

- а) полихроматического света от концентрации раствора и толщины кюветы;





- b) монохроматического света от концентрации светопоглощающих частиц;
- c) монохроматического света с постоянной длиной волны от концентрации светопоглощающих частиц и от толщины поглощающего слоя.

2. Установите соответствие между названием величин и их символами:

1) светопропускание;	a) A;
2) экстинкция;	b) T;
3) удельный коэффициент экстинкции;	c) $\epsilon$ ;
4) толщина поглощающего слоя;	d) E;
5) поглощение;	e) l.
6) молярный коэффициент экстинкции;	
7) абсорбция.	

3. Молярный и удельный коэффициенты экстинкции зависят от:

- a) природы поглощающей среды;
- b) частоты поглощаемого света;
- c) температуры;
- d) толщины поглощающего слоя.

4. Экстинкция смеси веществ, не взаимодействующих между собой и подчиняющихся закону светопоглощения (при  $\lambda = \text{const}$  и  $l = \text{const}$ ), равна:

- a) экстинкции компонента в преобладающей концентрации;
- b) сумме экстинкций компонентов.

5. Установите соответствие между областью электромагнитного спектра и интервалом длин волн:

- |                   |                    |
|-------------------|--------------------|
| 1) ИК;            | a) 185–390 нм;     |
| 2) микроволновая; | b) 0,76–1000 мкм;  |
| 3) рентгеновская; | c) 390–760 нм;     |
| 4) УФ;            | d) 0,1–10 см;      |
| 5) видимая.       | e) $> 10^{-12}$ м. |





## V II. Семинар «Токсикологическая характеристика парацетамола. Спектрофотометрический анализ»

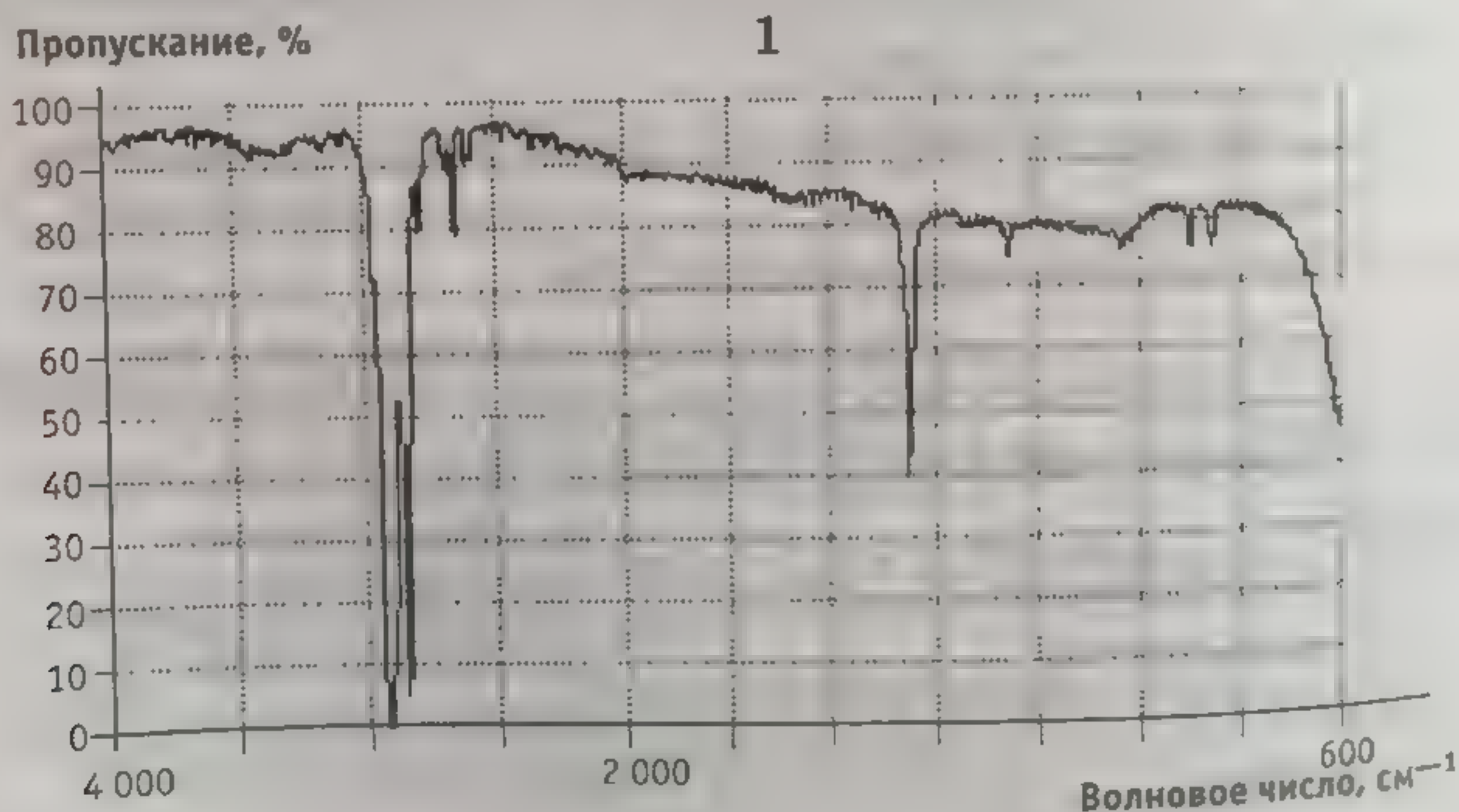
Образцы вопросов и задач, входящих в карточки индивидуального задания

1. Каковы механизмы биотрансформации парацетамола?
2. Напишите реакцию деацетилирования парацетамола. Назовите органы-мишени образующегося метаболита.
3. Прогнозируйте продукты окисления парацетамола при биотрансформации. Какие ферменты катализируют эти процессы? Назовите первичные органы-мишени продуктов биоокисления парацетамола.
4. Какие продукты второй фазы биотрансформации парацетамола известны? Запишите реакции их образования.

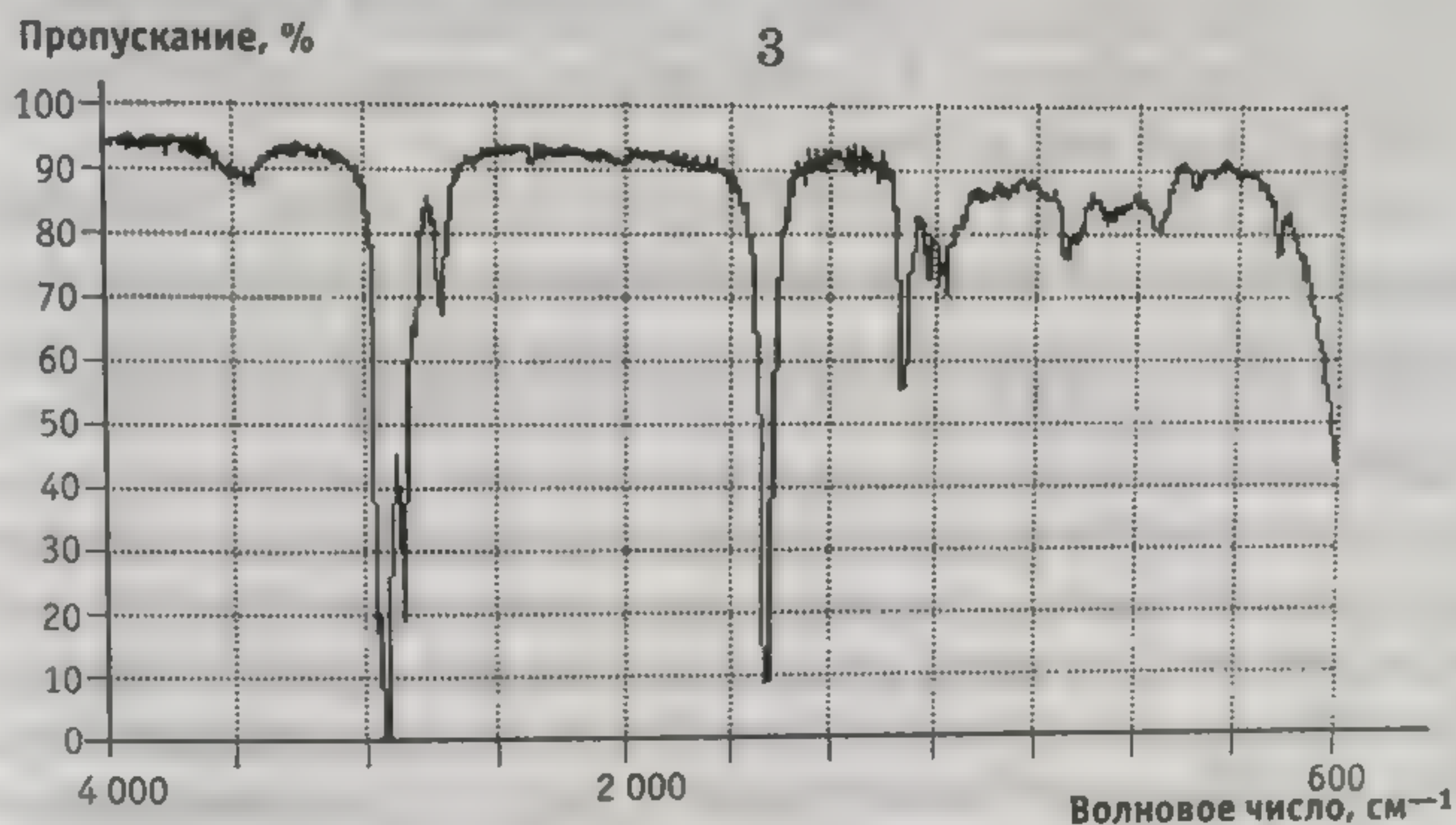
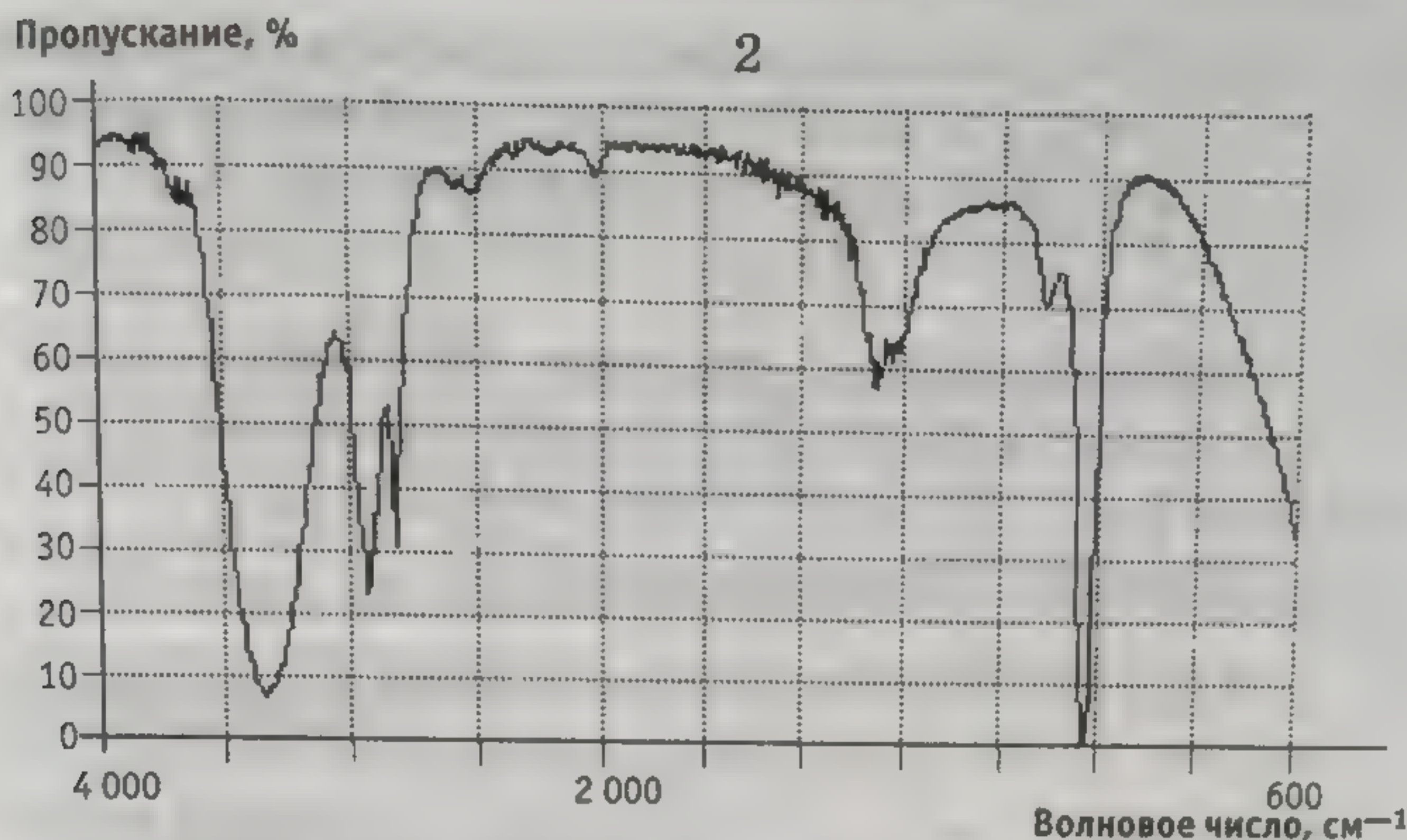
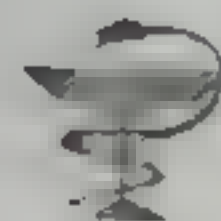
**Задание 1.** Произошло отравление одним из трех органических веществ. Известно, что среди них есть метанол  $\text{CH}_3\text{OH}$ , циклогексан  $\text{C}_6\text{H}_{12}$  и октаналь  $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$ . Предварительные клинические признаки свидетельствуют об отравлении метанолом.

1) Применяя полученные ИК-спектры испытуемых веществ, идентифицируйте предполагаемый яд.

2) Ответ обоснуйте, сделав отнесение характеристических полос, соответствующих разным функциональным группам (см. приложение 12.3).







**Задание 2.** Представлен ИК-спектр органической жидкости, найденной на одежде предполагаемого преступника. Место преступления сильно загрязнено смесью углеводородов, среди которых не были обнаружены следы кетонов, альдегидов, кислот и спиртов.

Используя ИК-спектр химического вещества с одежды подозреваемого, дайте заключение:

- 1) загрязнена ли одежда подозреваемого в преступлении углеводородным растворителем;
- 2) идентичны ли растворители на одежде и на месте преступления.





Для ответа на вопросы сделайте отнесение полос на ИК-спектре органической жидкости, найденной на одежде предполагаемого преступника (см. приложение 12.3).

### V III. Лабораторная работа «Химико-токсикологический анализ таблеток, найденных на месте происшествия (на примере парацетамола)»

В лабораторию для проведения химико-токсикологического анализа с места происшествия поступил образец — белый порошок. По словам пострадавшего, для снятия симптомов простуды им было принято неизвестное лекарственное средство, хранившееся в домашней аптечке и использованное ранее с этой же целью.

*Предварительные скрининговые испытания* позволили предположить, что исследуемый порошок — парацетамол.

*Проведите следующие подтверждающие испытания*

#### 1. Качественный анализ порошка:

— укажите цвет, фазовое состояние (аморфный или кристаллический), запах, растворимость в воде, растворе щелочи, эфире и этаноле лекарственного вещества исследуемого образца;

— проведите кислотный гидролиз лекарственного вещества с последующим окислением  $K_2Cr_2O_7$  и укажите окраску испытуемой пробы. Запишите соответствующие химические реакции;

— для идентификации парацетамола в биопробе проведите извлечение из подкисленного раствора хлороформом. ТСХ-система — хлороформ : этанол (99 : 1). Проявите 5%-ным р-ром  $FeCl_3$  (синее окрашивание пятен);

— получите УФ-спектр 0,0008%-ного водного раствора исследуемого порошка в интервале длин волн от 200 до 400 нм.

#### Методика

1. Около 0,045 г (точная навеска) исследуемого порошка поместите в мерную колбу вместимостью 100 мл; добавьте



60 мл воды, перемешайте в течение 10 мин, доведите объем раствора водой до метки.

2. Один мл полученного раствора поместите в мерную колбу вместимостью 50 мл, доведите объем раствора водой до метки и перемешайте.

3. Получите спектр поглощения исследуемого раствора в интервале длин волн 200–400 нм, используя кварцевую кювету толщиной 10 мм.

4. Наличие полосы поглощения с максимумом при 243 нм позволяет сделать вывод, что исследуемый порошок содержит парацетамол.

## 2. Количественный анализ

Измерения проводят с использованием раствора рабочего стандартного образца (РСО).

### Методика

1. Для его приготовления около 0,04 г (точная навеска) стандартного образца парацетамола поместите в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавьте 60 мл воды, перемешайте до растворения, доведите объем раствора водой до метки. Один мл полученного раствора перенесите в мерную колбу вместимостью 50 мл и вновь доведите объем раствора до метки.

2. На спектрофотометре СФ-201 (или любом ином):

— введите программу «Фотометрическое измерение» (режим Fotometr);

— установите нулевой образец (очищенную воду) на позицию «0» кюветного держателя;

— закройте крышку камеры и нажмите кнопку «Измерения»;

— установите кюветы с РСО парацетамола и исследуемым образцом на соответствующие позиции (№ 1 и 2) кюветодержателя;

— поочередно выделяйте на дисплее прибора (в правом нижнем углу) нужную позицию кюветодержателя с нажатием кнопки «Измерение»;

— снимите показания поглощения  $A$  раствора стандартного образца и исследуемого раствора парацетамола;





## Занятие 12

— рассчитайте содержание лекарственного вещества (%) в исследуемом порошке парацетамола.

*Сделайте заключение по результатам эксперимента, в котором укажите:*

1) парацетамол является (не является) действующим лекарственным веществом в исследуемом порошке (биоматериале), найденном на месте происхождения;

2) содержание действующего вещества в испытуемом образце составляет ....

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И. Биоорганическая химия: Учебник для вузов. — М.: Дрофа, 2004. — С. 513–518.
3. Свердлова О.В. Электронные спектры в органической химии. — М.: Химия, 1973. — С. 18–32.
4. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия. — М.: Высшая школа, 2001. — Т. 2. — С. 307–371.
5. Энциклопедия лекарств. — М., 2005. — С. 686–687.
6. European Pharmacopoeia 4<sup>th</sup> Edition, 2002. — P. 34–37.



## ЗАНЯТИЕ

# 13

### АТОМНО-АБСОРБЦИОННАЯ СПЕКТРОМЕТРИЯ, АТОМНО- ЭМИССИОННАЯ СПЕКТРОМЕТРИЯ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар «Основные принципы атомной спектрометрии. Способы минерализации биологических материалов при элементном анализе»
- III. Лабораторная работа «Определение цинка и железа в волосах человека методом ААС».

#### *Целевые задачи*

- познакомиться с принципиальными схемами атомно-абсорбционного и атомно-эмиссионного спектрометров;
- освоить методику количественного определения элементов в волосах человека методом атомной спектрометрии.

#### *Краткое теоретическое введение*

Для изучения содержания s-, p- и d-элементов в организме человека в норме и при отравлениях широко используются методы атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС) и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной





плазмой (АЭС-ИСП), отличающиеся высокой чувствительностью, низким пределом обнаружения и пределом количественной оценки. Методы позволяют в одной пробе биосубстрата (волосы, ногти, кровь, моча, продукты питания и др.) одновременно определить содержание десятков химических элементов, что очень важно для характеристики их взаимного влияния и комбинированного воздействия на биохимические процессы в организме.

### Атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС)

Впервые использование атомных спектров поглощения для спектрального анализа было предложено в 1955 г. С этого времени началось развитие атомно-абсорбционной спектрофотометрии как нового метода аналитической химии, характеризующегося высокой чувствительностью и селективностью, простотой выполнения и по сравнению с эмиссионными методами анализа значительно меньшим числом эффектов, мешающих анализу. В настоящее время одной из крупнейших фирм в области аналитического приборостроения Varian Inc. (США) принадлежит более 70% ключевых патентов в области атомной абсорбции.

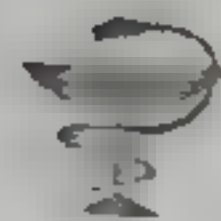
Метод ААС основан на явлении селективного поглощения свободными атомами ультрафиолетового и видимого излучения характеристических частот. Через слой атомных паров пробы, получаемые с помощью атомизатора, пропускают излучение в диапазоне 190–850 нм. В результате поглощения квантов света атомы переходят в возбужденные энергетические состояния (рис. 13.1).

Этим переходам в атомных спектрах соответствуют так называемые резонансные линии, характерные для данного элемента. Мерой концентрации элемента служит абсорбция



Рис. 13.1. Возбуждение атомов элементов при поглощении квантов света





$A = \lg(I_0/I)$ , где  $I_0$  и  $I$  — интенсивности излучения от источника соответственно до и после прохождения через поглощающий слой (закон Бугера–Ламберта–Бера).

Перевод анализируемого объекта в атомарное состояние и формирование поглощающего слоя пара определенной и воспроизводимой формы осуществляется в атомизаторе — в пламени (рис.13.2) или трубчатой печи.

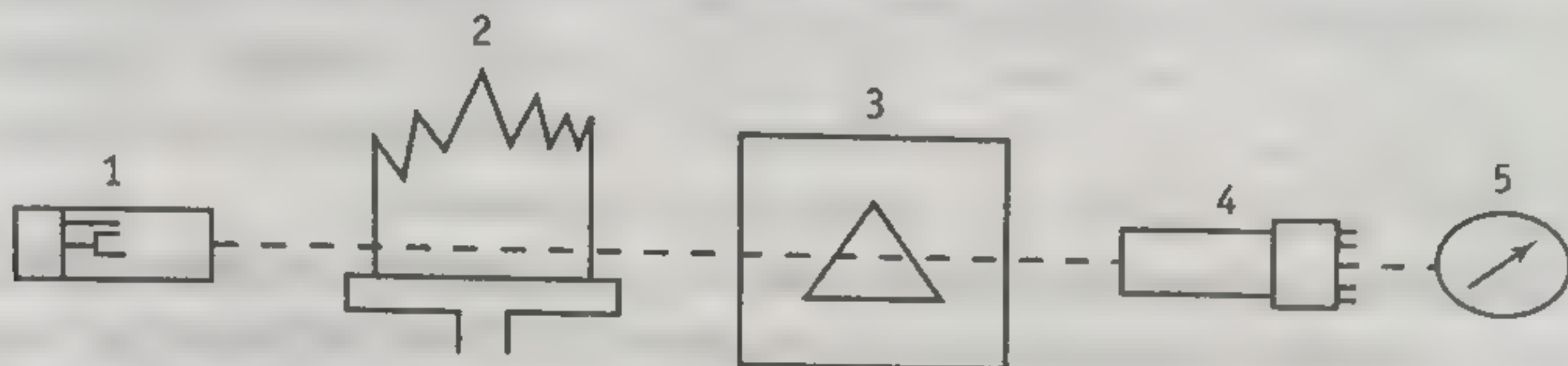


Рис. 13.2. Схема пламенного атомно-абсорбционного спектрометра:  
1 — источник излучения; 2 — пламя; 3 — монохроматор;  
4 — фотоумножитель; 5 — регистрирующий прибор

В зависимости от типа атомизатора выделяют атомно-абсорбционный анализ с пламенной атомизацией и непламенной атомизацией (электротермический). Наивысшую чувствительность в атомно-абсорбционной спектроскопии имеют приборы с электротермической атомизацией, в которых в отличие от приборов с пламенной атомизацией атомизированная проба остается в замкнутом объеме кюветы, а не уносится газовым потоком, тем самым большее количество атомов пробы поглощают излучение лампы и чувствительность определения возрастает на 2–3 порядка.

*Атомно-абсорбционный анализ с пламенной атомизацией.* Наиболее часто используют пламя смесей ацетилена с воздухом (максимальная температура 2000 °C) и ацетилена с оксидом азота (I) — закисью азота  $N_2O$  (2700 °C).

*Атомно-абсорбционный анализ с электротермической атомизацией.* Трубчатые печи сопротивления изготавливают чаще всего из плотных сортов графита. Для исключения диффузии паров через стенки и увеличения долговечности графитовые трубки покрывают слоем газонепроницаемого пироуглерода. Максимальная температура нагрева достигает 3000 °C. Менее распространены тонкостенные трубчатые





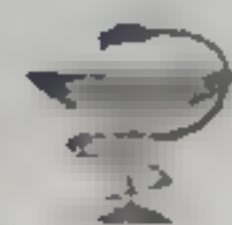
печи из тугоплавких металлов (вольфрама, таллия, молибдена), кварца с нихромовым нагревателем.

Одним из наиболее эффективных способов устранения влияний высоких концентраций компонентов матрицы на определение следов металлов при атомно-абсорбционном анализе в графитовой печи является использование *химических модификаторов*. Химический модификатор — это реагент (или смесь реагентов), добавление которого к образцу или уменьшает влияние, или изолирует определяемый элемент в специфической форме так, что позволяет разделить сигналы фона и атомного поглощения определяемого элемента.

*Ртутно-гидридная система* — дополнение к атомно-абсорбционному анализатору, основана на генерировании «холодного пара» Hg или летучих гидридов As, Sb, Bi, Te, Se, Sn, получаемых в процессе химического восстановления определяемого элемента и последующем его атомно-абсорбционном определении. Растворы проб подвергают в реакционном сосуде обработке в присутствии восстановителей, чаще всего  $\text{NaBH}_4$ . При этом ртуть отгоняется в элементном виде, мышьяк, сурьма и висмут — в виде гидридов, которые вносятся в атолизатор потоком инертного газа.

При атомно-абсорбционном анализе необходимо исключить наложение излучения атолизатора на излучение источника света, учесть возможное изменение яркости последнего, спектральные помехи в атолизаторе, вызванные частичным рассеянием и поглощением света твердыми частицами и молекулами посторонних компонентов пробы. Для этого пользуются различными приемами, например модулируют излучение источника с частотой, на которую настраивают приемно-регистрирующее устройство, применяют двухлучевую схему или оптическую схему с двумя источниками света (с дискретным и непрерывным спектрами). Наиболее эффективна схема, основанная на *зеemanовском расщеплении* (эффект Зеемана — расщепление линий атомных и молекулярных спектров под действием магнитного поля) и поляризации спектральных линий в атолизаторе. В этом случае через поглощающий слой пропускают свет, поляризованный перпендикулярно магнитному полю, что позволяет учесть неселективные спек-





тральные помехи, достигающие значений абсорбции  $A = 2$ , при измерении сигналов, которые в сотни раз слабее.

Пределы обнаружения большинства элементов в растворах при атомизации в пламени 1–100 мкг/л, в графитовой печи в 100–1000 раз ниже (табл. 13.1). Абсолютные пределы обнаружения в последнем случае составляют 0,1–100 пг ( $1 \text{ пг} = 10^{-12} \text{ г}$ ). Относительное стандартное отклонение в оптимальных условиях измерений достигает 0,2–0,5% для пламени и 0,5–1,0% — для печи.

Таблица 13.1

Нижние пределы количественного определения ( $\text{мкг/дм}^3$ ,  $\text{ppb}$ ) элементов из растворов, достигаемые методом ААС

Элемент	Пламя	Графитовая печь	Элемент	Пламя	Графитовая печь
Ag	1,5	0,02	Mn	1,5	0,035
Al	45	0,1	Mo	46	0,08
As	190	0,16	Na	0,3	0,02
Au	9	0,15	Ni	6	0,3
B	1000	20	Os	120	
Ba	15	0,35	Pb	15	0,08
Be	1,5	0,008	Pd	30	0,8
Bi	30	0,25	Pt	60	2
Ca	1,5	0,01	Rb	3	0,03
Cd	0,8	0,008	Rh	6	
Co	9	0,15	Ru	100	1
Cr	3	0,03	Sb	45	0,15
Cs	15		Sc	30	
Cu	1,5	0,1	Se	100	0,2
Fe	5	0,1	Sn	150	0,2
Ga	75		Sr	3	0,025
Ge	300	10	Te	30	0,4
In	30		Ti	75	0,35
Ir	900	3	Tl	15	0,15
K	3	0,008	V	60	0,1
Li	0,8	0,06	W	1500	
Mg	0,15	0,004	Zn	1,5	0,1

Примечание.  $1 \text{ ppb} = 1 \cdot 10^{-7} \%$ .





В автоматическом режиме работы пламенный спектрометр позволяет анализировать до 500 проб в час, а спектрометр с графитовой печью — до 30 проб. Оба варианта часто используют в сочетании с предварительным разделением и концентрированием.

*Ограничения метода* — невозможность одновременного определения нескольких элементов при использовании линейчатых источников излучения и, как правило, необходимость перевода проб в раствор.

### Атомно-эмиссионная спектрометрия (АЭС)

Атомно-эмиссионный спектральный анализ — один из самых распространенных экспрессных высокочувствительных методов идентификации и количественного определения малых содержаний элементов. Важным достоинством метода по сравнению с другими спектральными, а также многими химическими и физико-химическими методами является возможность одновременного определения большого числа элементов в широком интервале концентраций с приемлемой точностью при применении малой массы пробы. В настоящее время с помощью эмиссионного анализа в зависимости от объекта и модификации прибора определяют концентрации  $\sim 10^{-4}$ – $10^{-6}$  %, относительная стандартная ошибка определения малых содержаний элемента, как правило,  $\geq 15$ –25%.

Под АЭС-анализом понимают определение элементного состава вещества по оптическим атомным спектрам излучения, возбуждаемым в горячих источниках света. При получении энергии в результате электромагнитного излучения или столкновения с другой частицей электрон перемещается с орбитали основного состояния на более удаленную орбиталь с более высоким уровнем энергии. При этом атом переходит в возбужденное состояние, в котором он неустойчив, и электрон возвращается на орбиталь с меньшим уровнем энергии с испусканием электромагнитного излучения энергии  $h\nu$  (рис. 13.3).

Каждому виду атомов соответствуют характеристическое излучение, свой собственный ряд длин волн эмиссии и индивидуальная энергия (длина волны фотона) возбуждения.



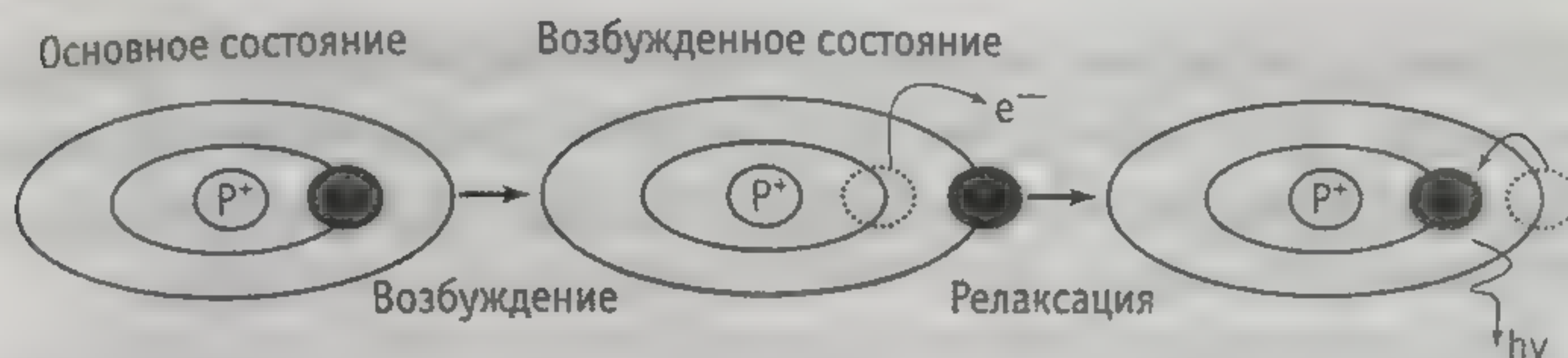
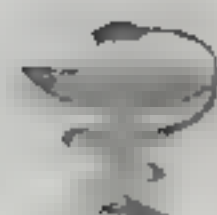


Рис. 13.3. Схема переходов электрона на атомных орбиталях при возбуждении и релаксации

В АЭС анализируемая проба подвергается действию высоких температур, достаточных не только для диссоциации на атомы, но и для перевода этих атомов в возбужденное состояние путем столкновения. В качестве источника возбуждения в АЭС используются: пламень (2000–3000 °С); печи (3000–4000 °С); электрические разряды, имеющие более высокую, чем у пламени и печей, температуру; индуктивно связанная плазма (10 000 °С).

Работа атомно-эмиссионного спектрометра сводится к следующему. Под воздействием источника возбуждения проба переводится в пар и происходит диссоциация ее на атомы и ионы. Электромагнитное излучение, испускаемое возбужденными атомами пробы, фокусируется на входную щель диспергирующего устройства — призмы или дифракционной решетки, — выделяющего узкую полосу длин волн из сравнительно широкой части спектра. В призмах световой поток разлагается вследствие разных показателей преломления для лучей разной длины волны. Падающий на дифракционную решетку свет отражается под углом, зависящим от длины волны и плотности линий решетки. Дифракционные решетки имеют большую разрешающую способность, чем призмы. В монохроматоре используются только одна щель на входе и один детектор, и при многоэлементном анализе осуществляется последовательное сканирование от одной спектральной линии к другой. В полихроматоре установлено несколько щелей и детекторов, каждая щель настроена на одну эмиссионную линию определенного элемента, что позволяет одновременно анализировать более 30 элементов. Излучение, разложенное диспергирующим устройством по длинам волн, регистрируется детектором. Существует несколько способов





наблюдения и регистрации спектров: визуальный, фотографический, фотоэлектрический, термоэлектрический и др. В современных спектральных приборах используется фотоэлектрический метод (фотоэлектронные умножители).

Цель практического эмиссионного анализа состоит в качественном обнаружении, в полуколичественном или точном количественном определении элементов в анализируемом веществе. Для качественного анализа достаточно однозначно установить наличие в спектре аналитических линий искоемых элементов на основании длины волны линий. Количественный анализ предполагает наличие функциональной зависимости между содержанием элемента в пробе и интенсивностью его аналитической линии.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. *Какие линии называются резонансными:*

- a) имеющие близкие потенциалы возбуждения;
- b) имеющие близкие потенциалы ионизации;
- c) обусловленные переходами электронов с возбужденных уровней на основной;
- d) обусловленные переходами электронов с первого возбужденного уровня на второй.

2. *Назовите преимущества дифракционной решетки как диспергирующего элемента перед призмой:*

- a) механическая прочность;
- b) высокая разрешающая способность;
- c) термостойкость.

3. *Какое пламя имеет наивысшую температуру:*

- a) закись азота — ацетилен;
- b) воздушно-ацетиленовая смесь;
- c) газовая горелка, использующая природный газ;
- d) водородно-кислородное.





4. На определении какого параметра спектрограммы основан качественный спектральный анализ:

- a) количество атомов, находящихся в возбужденном состоянии;
- b) расстояние между спектральными линиями примеси и основы исследуемого образца;
- c) длина волны спектральных линий;
- d) контрастность изображений спектральных линий.

5. Основная роль источника излучения:

- a) расплавление пробы;
- b) возбуждение атомов и ионов;
- c) диссоциация молекул;
- d) освещение щели спектрографа.

6. К ультрафиолетовой части спектра относится область длин волн (нм):

- a) 400–800;
- b) 180–400;
- c) 0,1–10;
- d) 800–1000.

7. Функция диспергирующего элемента в спектрографе:

- a) служит для фокусировки излучения;
- b) служит конденсором;
- c) регистрирует спектр;
- d) разлагает излучение по длинам волн.

8. Интенсивность ( $I$ ) спектральной линии связана с концентрацией ( $C$ ) ( $a$ ,  $b$ ,  $K$  — коэффициенты):

- a)  $I = K/C$ ;
- b)  $I = aC^b$ ;
- c)  $I = KC$ ;
- d)  $I = a \cdot \lg C$ .

9. Длина волны света связана с энергией кванта:

- a) пропорционально;
- b) не зависит от энергии;
- c) обратно пропорционально;
- d) зависит только в видимой области спектра.





10. Квантометры (полихроматоры) — это спектральные пробы, позволяющие:

- а) быстро сканировать по всему спектру;
- б) определять одновременно несколько элементов;
- с) получить излучение света отдельными квантами;
- д) менять ширину входной щели.

11. Монохроматоры — это спектральные приборы, позволяющие:

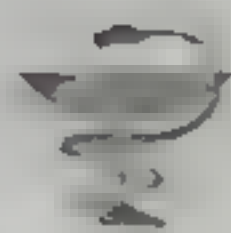
- а) использовать только призму для разложения излучения в спектр;
- б) выделять только узкий участок спектра;
- с) использовать несколько выходных щелей;
- д) использовать источники возбуждения, дающие монохроматическое излучение.

## V II. Семинар «Основные принципы атомной спектрометрии. Минерализация. Виды излучений атомов. Способы регистрации спектров»

### Вопросы для обсуждения на семинаре

- 1. Основной принцип атомной спектрометрии.
- 2. Схемы переходов электрона на атомных орбиталях.
- 3. Основное и возбужденное состояние атома.
- 4. Характеристическое и резонансное излучение атома.
- 5. Каким уравнением описывается переход из одного энергетического состояния атома в другое?
- 6. Как можно охарактеризовать индуктивно связанную плазму?
- 7. Какие источники возбуждения атома используют в АЭС?
- 8. Разрешающая способность измерительного прибора на примере метода АЭС с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП).
- 9. Монохроматор и полихроматор: основное предназначение, сходство и отличие.



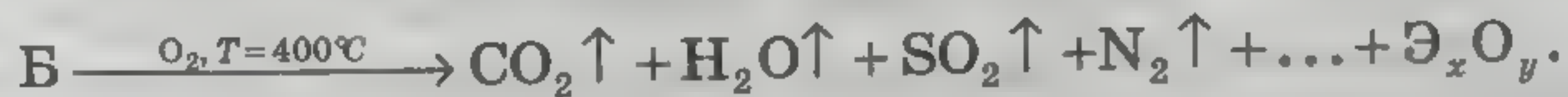


10. Способы регистрации спектров в атомной спектрометрии.
11. Количественное определение элемента методами ААС и АЭС-ИСП.
12. Эффект Доплера.
13. Принципиальная схема ААС.
14. Разновидности атомизаторов в ААС. Требования, предъявляемые к пламенным атомизаторам. Какие недостатки наблюдаются у электротермических атомизаторов?
15. Способы пробоподготовки биообъекта для проведения атомной спектрометрии. Виды минерализации.

## V III. Лабораторная работа «Определение цинка в волосах человека методом ААС»

### Пробоподготовка образцов волос для ААС

Методы пробоподготовки биопроб к анализу для определения их элементного состава заключаются в разрушении биологического материала. Это достигается путем «сухой» или «мокрой» минерализации. «Сухая» минерализация — это высокотемпературное «озоление» биоматериала, в результате которого образуется сухой остаток твердых оксидов металлов и амфотерных элементов («зола»). «Мокрая» минерализация — это окисление биоматрицы с использованием растворов веществ-окислителей ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{KMnO}_4$ ). В обоих случаях биологическая матрица (Б) окисляется до газообразных оксидов углерода и серы, воды, азота и др. Одновременно происходит образование твердых оксидов, содержащих определяемый металл или амфотерный элемент ( $\text{Э}_x\text{O}_y$ ):



Процесс минерализации анализируемой биопробы сопровождается ее концентрированием, т.к. из большой навески биоматериала образуется остаток (раствор или твердый остаток), преимущественно содержащий определяемый элемент (элементы). После растворения или разведения полученного в результате минерализации остатка аликвота полученного





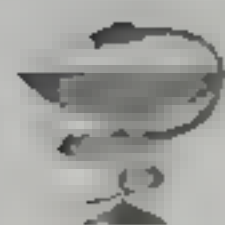
раствора вводится в тот или иной анализатор, например в атомно-абсорбционный спектрометр.

При анализе кожи, ногтей, волос целесообразно использовать «сухое» озоление, что позволяет получить минимальный объем пробы с высоким содержанием металлов или амфотерных элементов. Термическое разложение («сухую» минерализацию) волос проводят в кварцевых тиглях. Кварц достаточно инертен, не выделяет в пробу загрязнений и не сорбирует определяемые элементы.

Точную навеску волос (волосы не требуют предварительного высушивания до постоянной массы) помещают в кварцевые тигли и озоляют в муфельной печи при  $400 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение 15–30 мин (в зависимости от массы пробы). После охлаждения тигля определяют массу образовавшейся золы. Содержимое охлажденных тиглей смачивают концентрированной азотной кислотой ( $\text{HNO}_3$ ) с добавлением нескольких капель 30%-ного пероксида водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), подсушивают на электроплитке с асбестовым покрытием и снова прокаливают в муфельной печи в течение 30–40 мин при  $400^\circ\text{C}$ . Если в пробе остаются темные вкрапления (частишки углерода или карбидов металлов), процесс повторяют до образования серого, почти белого остатка. Для перевода пробы в раствор содержимое тигля растворяют в 2 мл концентрированной  $\text{HNO}_3$ , упаривают на водяной бане до «мокрых солей», затем остаток растворяют при нагревании в 5 мл 1 моль/л  $\text{HNO}_3$ . Количественно переносят содержимое тигля в мерную колбу или пробирку (объемом 10 или 25 мл), промывая тигель дистиллированной водой, объем доводят до метки водой. Если процесс деструкции биоматериала прошел до конца, то раствор в мерной колбе представляет собой прозрачную и бесцветную жидкость. Параллельно с исследуемой пробой готовят контрольную пробу на реактивы (все вещества и операции, как для анализируемой пробы, за исключением осадка в тигле).

Содержание металла в пробе определяют с помощью калибровочной кривой, для построения которой используют стандартные образцы (СО) — водные растворы цинка хлорида. Стандартные растворы готовят с добавлением азотной ки-





слоты, которая использовалась для получения конечного раствора анализируемой пробы — 1 моль/л  $\text{HNO}_3$ . Серия калибровочных растворов состоит из 6 растворов с концентрацией цинка: 0,4, 0,8, 1,2, 1,6, 2,0 мкг/кг. Сначала готовят раствор с большей концентрацией (2 мкг/мл), а затем получают рабочие калибровочные растворы путем последовательного разбавления исходного. Калибровочную прямую проводят, осуществляя автоматическую линеаризацию, например в программе Origin (рис. 13.4).

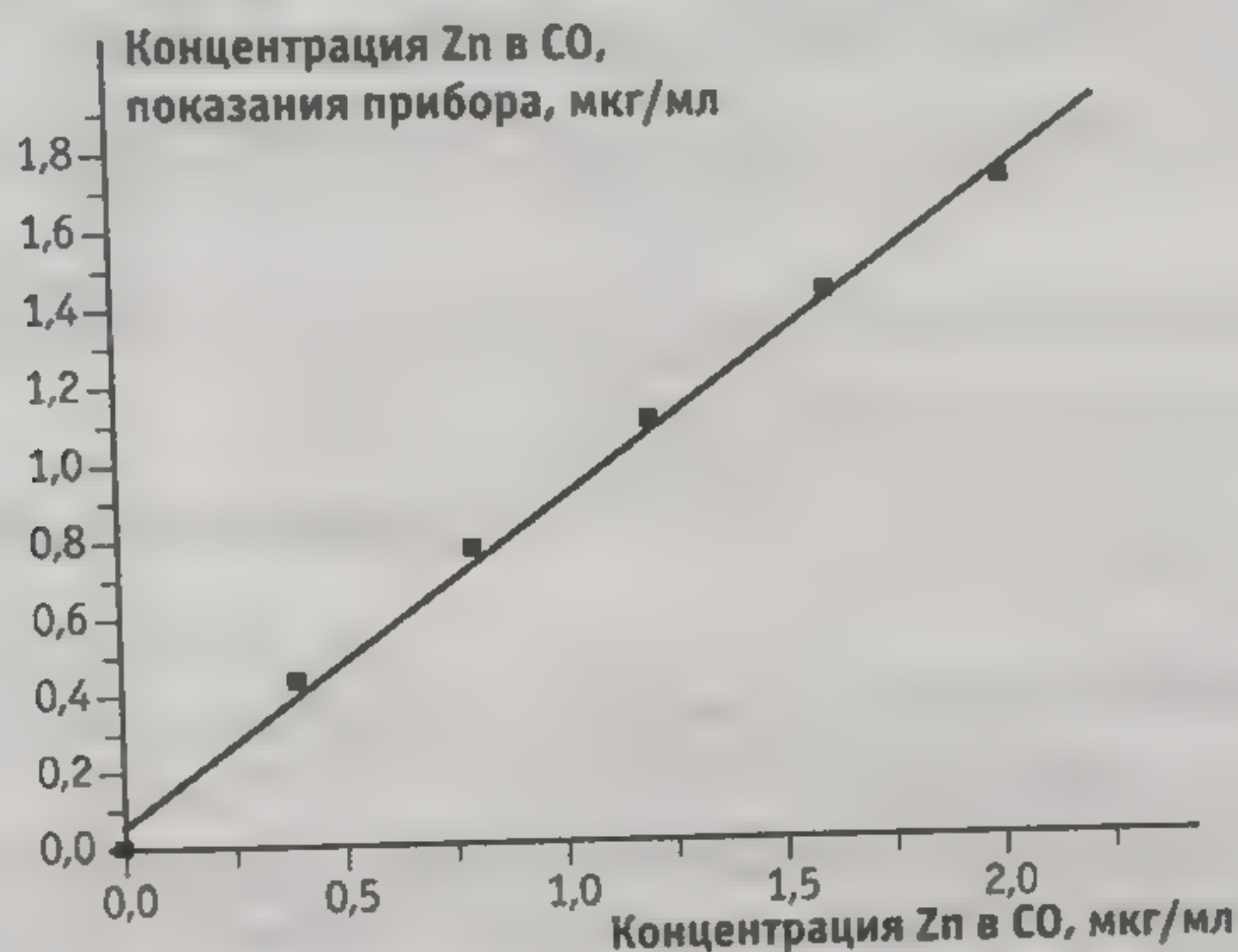


Рис. 13.4. Калибровочный график для определения цинка в волосах, полученный с использованием стандартного образца (СО) соли цинка

Анализ исследуемых растворов проводят при следующих настройках атомно-абсорбционного спектрометра (например, AAS30):

Лампа с полым катодом	цинковая
Длина волны (Zn)	213,9 нм
Щель монохроматора	0,2 мм
Ток для лампы	5А
Пламя	ацетилен/воздух (расход: 90/650 л/ч)
Режим	однолучевой
Режим индикации	концентрация





Результаты измерений внесите в таблицу:

№ образца волос	Масса волос до озоления, мг	Масса сухого остатка после озоления, мг	Объем раствора, мл	Концентрация цинка в пробе (показания прибора), мкг/мл	Концентрация Zn в образце волос, мкг/г	Относительная ошибка среднего результата $\varepsilon = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\%$ при доверительной вероятности $P = 0,95$
Контрольная проба	—	—	25			
1			25			
...			25			
5			25			

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 217–238.
3. Назаров Г.Н., Макаренко Т.Ф. Методы спектрального анализа в судебной медицине. — М.: МНПП ЭСИ, 1994. — 360 с.
4. Дробышев А.И. Основы атомного спектрального анализа. — СПб.: СПб. университет, 2000. — 314 с.
5. Прайс В. Аналитическая атомно-абсорбционная спектроскопия. — М.: Мир, 1976. — 358 с.
6. Брицке М.Э. Атомно-абсорбционный спектрохимический анализ. — М.: Химия, 1982. — 224 с.



## ЗАНЯТИЕ

# 14

### ПРИМЕНЕНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

---

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторная работа «Определение никотиновой кислоты методом хроматографии в тонком слое».
- III. Лабораторная работа «Определение содержания гемцитабина в лиофилизированном порошке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

#### *Целевые задачи*

- ознакомиться с классификацией хроматографических методов анализа;
- изучить методику проведения хроматографирования в тонком слое;
- освоить принципы, лежащие в основе определения ксенобиотиков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

#### *Краткое теоретическое введение*

Хроматографией называется разделение веществ, основанное на распределении компонентов смеси между неподвижной (стационарной) и подвижной (мобильной) фазами.





Основатель хроматографического метода — русский ученый Михаил Семенович Цвет, который впервые в 1903 г. использовал его для разделения растительных пигментов.

Классификация хроматографических методов анализа. Методы хроматографии классифицируют по: *агрегатному состоянию фаз, механизму разделения, аппаратному оформлению процесса и способу перемещения подвижной фазы и хроматографируемой смеси.*

По агрегатному состоянию фаз различают жидкостную и газовую хроматографию.

По механизму разделения различают методы: сорбционные, которые основаны на законах распределения (адсорбционная, распределительная, ионообменная хроматография и др.), гельфильтрационные (проникающая хроматография), которые основаны на различии в размерах молекул разделяемых веществ. На практике часто реализуются одновременно несколько механизмов разделения.

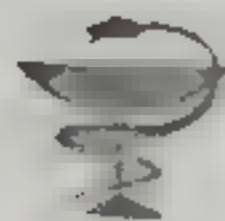
По аппаратному оформлению процесса хроматографию подразделяют на *колоночную*, когда разделение веществ проводится в специальных колонках, и *плоскостную*: тонкослойную и бумажную. В тонкослойной хроматографии разделение проводится в тонком слое сорбента, в бумажной — на специальной бумаге.

По способу перемещения подвижной фазы и хроматографируемой смеси различают *фронтальную* и *элюентную* хроматографию.

При непрерывном введении в хроматографическую колонку растворенной смеси в чистом виде выделяется только одно, наиболее слабосорбирующееся вещество. Остальные вещества выходят из колонки в виде смеси. Этот метод называют *фронтальной хроматографией*.

В методе *элюентной хроматографии* через колонку пропускают подвижную фазу (элюент), вводят пробу и снова пропускают подвижную фазу. В процессе движения по колонке компоненты смеси расчленяются на зоны. Эти зоны разделены зонами чистого растворителя и выходят из колонки поочередно.





**Хроматография в тонком слое, или тонкослойная хроматография — Thin Layer Chromatography (ТСХ, TLC), — один из эффективных методов хроматографического анализа. Механизм разделения веществ, как правило, является адсорбционным.**

Хроматографирование осуществляется на пластинке, равномерно покрытой слоем сорбента. Различают незакрепленный и закрепленный слой сорбента. Размер частиц сорбента обычно 5–40 мкм.

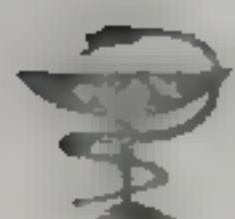
В начале появления метода пластины приходилось изготавливать самостоятельно. В современной хроматографии в основном используются пластины заводского изготовления, отличающиеся размерами, носителями и подложками.

Современная хроматографическая пластинка представляет собой основу из стекла, алюминия или полимерного материала (например, политерефталата). В связи с тем что стеклянная основа становится менее популярной (часто бьется, тяжелая, не делится на несколько частей без повреждения слоя сорбента), наибольшее распространение получили пластины на основе алюминиевой фольги или полимерных материалов.

В качестве сорбента в ТСХ применяют диоксид кремния — силикагель, оксид алюминия, целлюлозу, полиамидные смолы, активированный уголь и другие вещества с высокой адсорбционной способностью. Толщина слоя может быть различна (100 мкм и более), но самый важный критерий — равномерная толщина слоя по всей поверхности хроматографической пластинки.

При выборе растворителей в ТСХ учитывают их элюирующую способность — способность вытеснять соединения, сорбированные на неподвижной фазе. Элюирующая способность зависит от свойств растворителя и сорбента. Выбор растворителя для ТСХ облегчает существование элюотропного ряда для данного сорбента, в котором растворители расположены в порядке возрастания их полярности: циклогексан, четыреххлористый углерод, трихлорэтилен, толуол, бензол, дихлорэтан, хлороформ, диэтиловый спирт, этилацетат, ацетон, пропанол, этанол, метанол, вода. Смешивая два раство-





рителя из начала и конца элюотропного ряда и меняя их количества, подбирают систему растворителей в качестве подвижной фазы.

Нанесение пробы — это важный этап, обеспечивающий качество хроматограммы. Анализируемую пробу наносят с помощью капилляра на пластинку на расстоянии 6–8 мм от ее края в виде раствора, желательно в неполярном и легкоиспаряющемся растворителе. Существенными факторами являются количество наносимого вещества и компактность пятна наносимого раствора. В случае слишком большого количества образца адсорбционной емкости сорбента может оказаться недостаточно, и вещество, которое не сможет полностью адсорбироваться, будет растворяться в элюенте. В этом случае получаются слишком вытянутые пятна («хвосты»), и вещества с близкой хроматографической подвижностью могут слиться в одно вытянутое пятно. Минимальное количество нанесенного образца лимитируется порогом чувствительности метода обнаружения пятна на пластинке. Эффективность разделения веществ заметно возрастает при использовании *высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ)*. За счет создания принудительного движения подвижной фазы с регулируемой скоростью, уменьшения размера частиц сорбента (до 5–7 мкм) и насыщения пространства над пластиной парами растворителя удается существенно *ускорить процесс хроматографирования и повысить четкость разделения*.

Разделение веществ осуществляют в хроматографических камерах, куда помещают пластинку с нанесенными образцами. Элюент, продвигаясь за счет капиллярных сил по пластинке, увлекает за собой разделяемые вещества. По окончании хроматографирования отмечают положение фронта растворителя.

Если анализу подвергаются два вещества А и Б и их смесь В, то каждое из веществ проходит определенное расстояние, замеряемое от линии нанесения (старта) до центра пятна. Положение пятен на хроматограмме характеризуется величинами  $R_f$  (ratio of fronts — отношение фронтов), которые представляют собой отношения расстояний, пройденных веществом, к расстоянию, пройденному элюентом (рис. 14.1).



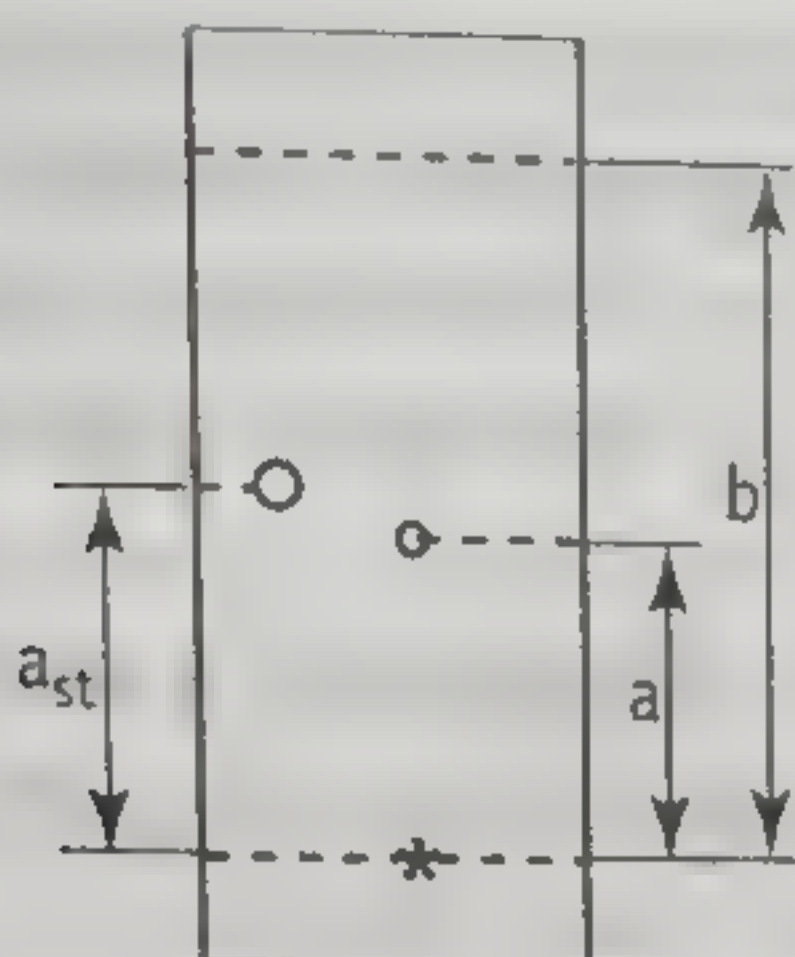
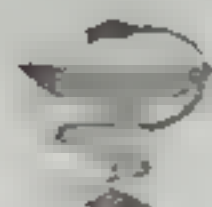


Рис. 14.1. Схема обработки тонкослойной хроматограммы после проявления пятен определяемого вещества и свидетеля (стандарта):

$a$  — расстояние, пройденное определяемым веществом (o);

$b$  — расстояние, пройденное подвижной фазой;

$a_{st}$  — расстояние, пройденное стандартным образцом (O)

Значения  $R_f$   $\left( R_f = \frac{a}{b} \right)$  для каждого соединения при опре-

деленных условиях являются константой. Для многих веществ эти значения приводятся в справочной литературе и могут применяться для идентификации веществ. Однако значения  $R_f$  в заметной степени зависят от условий хроматографирования (природы и качества растворителя и сорбента, температуры и др.), которые в точности соблюсти практически невозможно. Поэтому более надежным доказательством идентичности исследуемого вещества его стандарту является совпадение величин  $R_f$ , полученных на одной хроматограмме

$\left( R_{fst} = \frac{a_{st}}{b}, R_s = \frac{R_f}{R_{fst}} \right)$  а не путем сопоставления со справоч-

ными данными. С этой целью вещество известного строения, называемое свидетелем, хроматографируют одновременно с анализируемым веществом. Несовпадение величин  $R_f$  анализируемого вещества и свидетеля (стандарта) полностью исключает их тождественность, вместе с тем совпадение еще не является полной гарантией идентичности двух веществ. Надежность идентификации значительно повышается, если одинаковые значения  $R_f$  анализируемого вещества и свидетеля получены при хроматографировании в нескольких растворителях.





Обнаружение веществ на хроматограммах осуществляют по пятнам при хроматографировании окрашенных веществ. Однако большинство органических веществ бесцветны, поэтому пятна обнаруживают химическими или оптическими методами.

Высушенную от растворителя (элюента) пластинку опрыскивают (если слой сорбента закреплен) химическим реагентом, дающим окрашенные продукты с анализируемыми веществами. Другим вариантом обнаружения пятен является проявление в парах йода, для чего пластинку помещают в закрытый сосуд, в котором находятся несколько кристалликов йода. Через 15–20 мин пластинку вынимают, избыток йода испаряется на воздухе. На месте органических веществ остаются желто-коричневые пятна.

Некоторые вещества, например углеводы, обугливаются при нагревании до 250–300°С, что может быть использовано для их обнаружения. Вещества, поглощающие УФ-излучение, возможно обнаружить при рассмотрении пластинки под УФ-лампой.

Методом ТСХ можно проводить препаративное разделение, для чего используют пластинки с большей толщиной слоя сорбента (1–2 мм). Раствор разделяемой смеси наносят полосой на линию старта по всей ширине пластинки. После обычной процедуры хроматографирования компоненты смеси располагаются горизонтальными зонами, которые удобнее всего обнаруживать в УФ-свете. При использовании химических реагентов опрыскивают узкую боковую полосу у края пластинки. Обнаруженные зоны снимают с пластинки (кроме опрысканной полосы) и вымывают из них вещества подходящим растворителем. На пластинках шириной 15–20 см этим методом можно разделить до 100 мг смеси веществ.

*Роль ТСХ в аналитической токсикологии.* Хроматографические методы продолжают оставаться основным инструментом аналитической токсикологии. По темпам развития среди них первые места занимают высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография и хромато-масс-спектрометрия (ГХ/МС, ЖХ/МС). Однако остается значительной и роль хроматографии в тонком слое (ТСХ). Этот





метод сыграл большую роль в аналитической токсикологии, когда ВЭЖХ и ЖХ/МС еще не были доступны для широкого использования. Полуколичественный вариант ТСХ является и в настоящее время недорогим и эффективным методом разделения, идентификации и полуколичественного определения веществ, в том числе и токсикантов. До сих пор ТСХ используется как альтернативный аналитический метод для подтверждения идентификации токсичных веществ в первую очередь при скрининговых исследованиях в химико-токсикологическом анализе. Все пробы, давшие «положительную» реакцию, далее исследуют каким-то более специфическим инструментальным методом (ГХ, ВЭЖХ, ГХ/МС, ЖХ/МС), в то время как все отрицательные результаты скрининга принимают как окончательные без какой-либо проверки.

### Основы метода жидкостной хроматографии

Жидкостная хроматография — процесс разделения компонентов смеси, основанный на различии в равновесном распределении компонентов смеси между двумя фазами — элюентом (подвижной фазой — ПФ) и адсорбентом (неподвижной фазой — НФ). Компоненты разделяемой смеси распределяются между ПФ и НФ в соответствии с их коэффициентами разделения  $K$ , определяемыми по формуле:

$$K = c(\text{НФ})/c(\text{ПФ}).$$

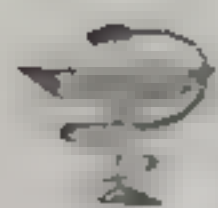
где  $c(\text{НФ})$  и  $c(\text{ПФ})$  — соответственно содержание (г/мл) компонента в обеих фазах, находящихся в динамическом равновесии.

Равновесный обмен хроматографируемого вещества между обеими фазами осуществляется в результате многократного повторения актов сорбция-десорбция по мере движения ПФ вдоль НФ внутри хроматографической колонки.

Хроматографический анализ базируется на теориях: *методе теоретических тарелок* и *кинетической теории хроматографии*.

В методе теоретических тарелок Мартина и Синджа хроматографическая колонка теоретически делится на ряд элементарных участков — тарелок. Предполагается, что на ка-





ждой тарелке устанавливается равновесие между сорбентом (НФ) и элюентом (ПФ). Каждая новая порция элюента вызывает смещение этого равновесия, вследствие чего часть вещества переносится на следующую тарелку, на которой вновь устанавливается равновесие.

Эффективность колонки тем выше, чем меньше высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ), и больше число теоретических тарелок (ЧТТ)  $N$ . ЧТТ легко определить по формуле:

$$N = 5,54 \left( \frac{t_R}{\omega_{1/2}} \right)^2 = 16 \left( \frac{t_R}{\omega} \right)^2$$

и хроматограмме (рис. 14.2).

Зная число теоретических тарелок, приходящееся на колонку, длину колонки  $L$  (мкм), а также средний диаметр зерна сорбента  $d_s$  (мкм), легко получить значения высоты, экви-

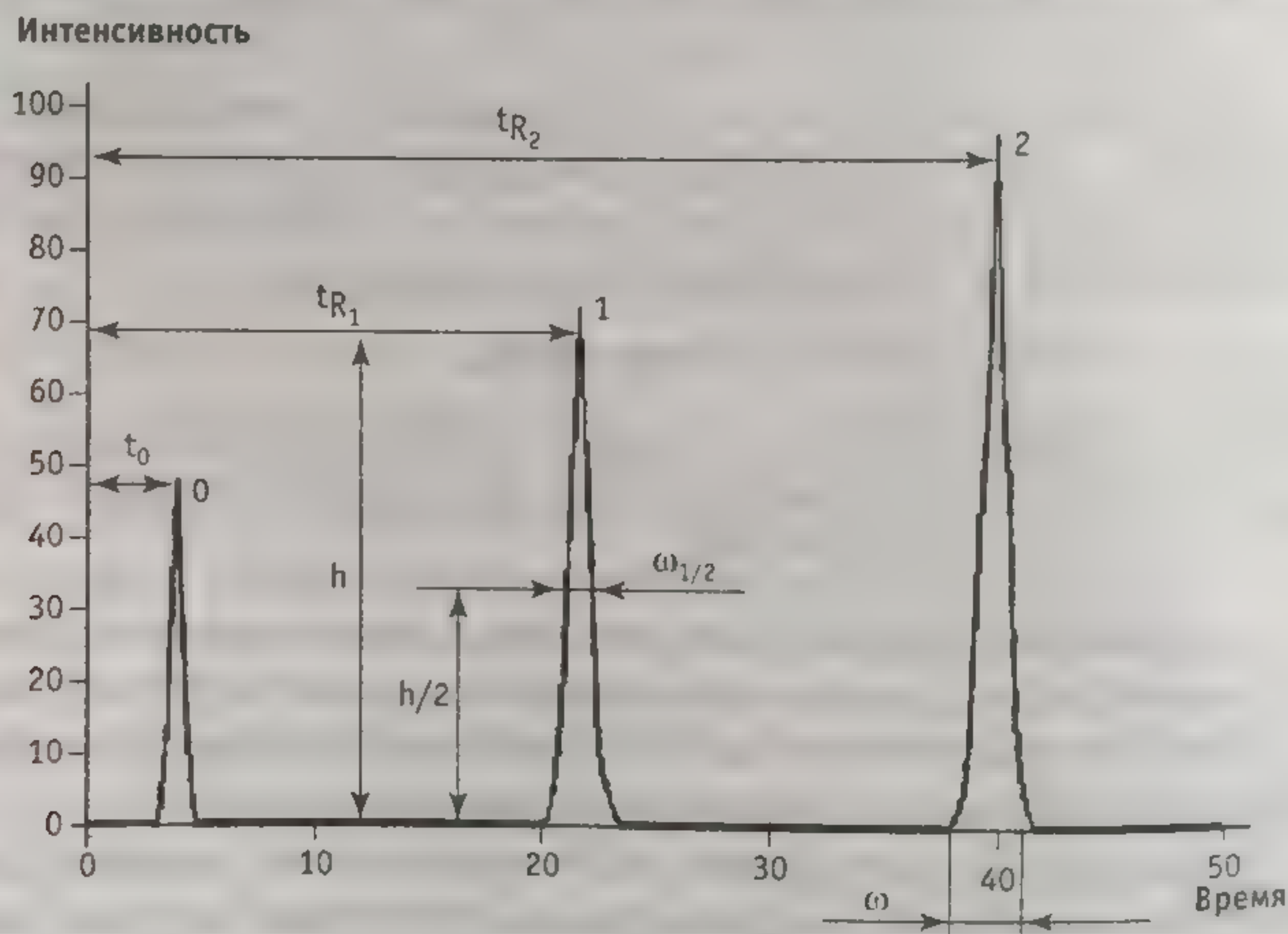


Рис. 14.2. Параметры хроматографических пиков:

$t_R$  — время удерживания пика;  $h$  — высота пика;

$\omega_{1/2}$  — ширина пика на половине его высоты

$\omega$  — ширина пика у основания





валентной теоретической тарелке (ВЭТТ), а также приведенной высоты, эквивалентной теоретической тарелке (ПВЭТТ):

$$\text{ВЭТТ} = L/N$$

$$\text{ПВЭТТ} = \text{ВЭТТ}/dc.$$

Селективность колонки  $\alpha$  определяется отношением приведенных времен удерживания двух пиков по следующему уравнению:

$$\alpha = (t_{R_2} - t_0) / (t_{R_1} - t_0),$$

где  $t_0$  — время удерживания несорбируемого компонента;  
 $t_{R_1}$  и  $t_{R_2}$  — время удерживания компонентов 1 и 2.

Селективность колонки играет большую роль в достижении хроматографического разделения. Факторами, определяющими селективность разделения, являются: химическая природа сорбента; состав растворителя и его модификаторов; химическая структура и свойства компонентов разделяемой смеси; температура колонки.

*Кинетическая теория* основана на кинетике хроматографического разделения и связывает ВЭТТ с процессами диффузии и установлением равновесия между двумя фазами. В основе лежит уравнение Ван-Деемтера:

$$H = A + B/U + CU,$$

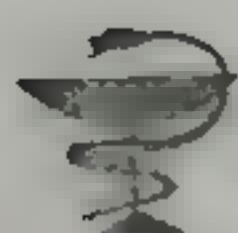
где  $A$ ,  $B$  и  $C$  — константы;

- $U$  — скорость перемещения подвижной фазы;
- константа  $A$  связана с действием вихревой диффузии, которая зависит от размера частиц и плотности заполнения колонки;
- $B$  — связана с коэффициентом диффузии молекул в подвижной фазе;
- $C$  — характеризует кинетику процесса сорбция-десорбция, массопередачу и другие эффекты.

Важным параметром удерживания в жидкостной хроматографии является коэффициент емкости  $k'$ , определяемый как частное от деления массы вещества в неподвижной фазе на массу вещества в подвижной фазе:

$$k' = m_n / m_m.$$





Величину  $k'$  можно определить по хроматограмме:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}.$$

При рассмотрении разделения двух компонентов на хроматограмме и его оценке важным параметром является разрешение  $R_s$ , которое связывает время выхода и ширину пиков обоих разделяемых компонентов:

$$R_s = \frac{2(t_{R(2)} - t_{R(1)})}{W_{s(2)} + W_{s(1)}},$$

где  $t_{r(1)}$  и  $t_{r(2)}$  — время удерживания или расстояние вдоль базисной линии от точки введения до середины основания (определяется как перпендикуляр, опущенный от максимумов двух смежных пиков до их базисной линии);

$W_{s(1)}$  и  $W_{s(2)}$  — ширина пиков.

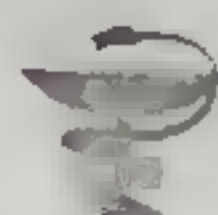
Разрешение как параметр, характеризующий разделение пиков, увеличивается по мере возрастания селективности адсорбции, отражаемой ростом числителя, и роста эффективности хроматографического разделения, отражаемой снижением значения знаменателя из-за уменьшения ширины пиков.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (жидкостная хроматография высокого давления, ВЭЖХ) — удобный способ разделения, препаративного выделения и проведения количественного и качественного анализа нелетучих термолабильных соединений как с малой, так и с большой молекулярной массой.

ВЭЖХ является вариантом колоночной жидкостной хроматографии, в которой подвижная фаза — элюент — проходит через заполняющий колонку сорбент с большей скоростью за счет значительного давления на входе в хроматографическую колонку.

Основными узлами современного жидкостного хроматографа являются: насос высокого давления, дозатор, высокоэффективная колонка, детектор с регистрирующим устройством.





Насос высокого давления (до 200–500 атм) обеспечивает подачу элюента в колонку с заданной постоянной скоростью. В некоторых микроколоночных хроматографах применяются насосы сравнительно низкого давления (до 10–20 атм).

Хроматографические колонки из нержавеющей стали (или из стекла) длиной 10–25 см с внутренним диаметром 0,3–0,8 см (чаще 0,4–0,5 см) заполняют адсорбентом с диаметром частиц 5–10 мкм сферической или неправильной формы с помощью суспензионного метода, что дает возможность получить более равномерную и плотную упаковку частиц сорбента в колонке. Заполнение колонки проводят при давлениях выше рабочего давления в хроматографе. В микроколоночных хроматографах используются колонки меньшей длины и меньшего внутреннего диаметра (0,1–0,2 см и меньше).

Частицы адсорбента не должны разрушаться при заполнении колонки под большим давлением. Плотная упаковка частиц адсорбента малого диаметра (5–10 мкм) в колонке позволяет получить высокоэффективное хроматографическое разделение компонентов смеси. Температура хроматографических колонок может поддерживаться с точностью  $\pm 0,1^\circ\text{C}$  в интервале, ограниченном температурой замерзания и кипения элюента. Чаще всего разделение проводят в интервале температур 20–50  $^\circ\text{C}$ .

Детекторы в жидкостной хроматографии. Обычно используют спектрофотометрический детектор с переменной (190–900 нм) или фиксированной (чаще 254 нм) длиной волны, рефрактометрический, флуорометрический детекторы, а также детекторы транспортного типа (раствор после хроматографирования попадает на непрерывно движущуюся транспортную ленту, которая попадает в печь, где происходит испарение элюента; остаток на транспортной ленте испаряется в реакторе и анализируется методом ГЖХ).

Адсорбенты. Чаще всего применяют силикагель с гидроксильной поверхностью и силикагель с привитыми к поверхности различными функциональными группами — неполярными алкильными остатками от C8 до C18 (обращено-фазовый вариант ВЭЖХ) или замещенными алкилхлорсиланами, содержащими полярные группы: нитрильную,





диольную, аминогруппу (нормально-фазовый вариант ВЭЖХ); реже используются окись алюминия и полимерные адсорбенты. Соответственно для неполярной неподвижной фазы используются полярные элюенты (смеси из таких растворителей, как ацетонитрил, метанол, вода, тетрагидрофуран), а для полярной — смеси неполярных органических компонентов (например, гексан, хлороформ, дихлорэтан).

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. При скрининговых исследованиях в химико-токсикологическом анализе наиболее часто применяют следующие виды хроматографии:

- a) тонкослойную;
- b) высокоэффективную жидкостную;
- c) газовую;
- d) фронтальную.

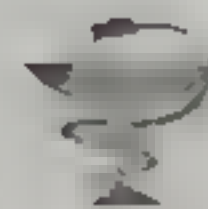
2. Для оценки эффективности хроматографической системы используют понятие:

- a) число теоретических тарелок;
- b) фактор удерживания;
- c) высота, эквивалентная теоретической тарелке;
- d) сорбционный коэффициент.

3. Фактор удерживания  $R_f$ :

- a) равен отношению расстояния от стартовой точки до середины пятна вещества к расстоянию от стартовой точки до линии фронта растворителя;
- b) является абсолютной характеристикой хроматограммы;
- c) зависит от длительности проявления;
- d) равен отношению расстояния от стартовой точки до линии фронта растворителя к расстоянию от стартовой точки до середины пятна вещества.





4. Для определения химических веществ применяют следующие типы детекторов:

- a) спектрофотометрические;
- b) радиоактивационные;
- c) дифракционные;
- d) электрохимические.

5. В качестве сорбентов в методе тонкослойной хроматографии применяют:

- a) полиамид;
- b) цианокрилат;
- c) оксид алюминия;
- d) силикагель.

6. Разделение веществ в методе тонкослойной хроматографии осуществляется вследствие:

- a) направленного градиента концентрации жидкой фазы;
- b) изменения полярности вещества;
- c) многократного распределения вещества между подвижной и неподвижной фазами;
- d) давления пара жидкой фазы в хроматографической камере.

7. Выбор растворителя в методе ТСХ зависит от:

- a) полярности растворителя;
- b) природы пластинки;
- c) активности сорбента;
- d) объемного соотношения компонентов смеси подвижной фазы.

8. Для идентификации ксенобиотиков методом тонкослойной хроматографии применяют следующие реактивы:

- a) реактив Марки;
- b) подкисленный йодоплатинат;
- c) нитрат ртути (II);
- d) реактив Манделина.





9. В методе жидкостной хроматографии мерой оценки качества разделения служит разрешение  $R$  между двумя соседними пиками, которое зависит от:

- a) размера частиц сорбента;
- b) скорости подачи элюента;
- c) вязкости элюента;
- d) температуры.

10. Жидкостная хроматография основана на теории:

- a) обратимого и стехиометрического обмена ионами;
- b) абсорбции света;
- c) адсорбции вещества из раствора;
- d) различия в размерах молекул.

11. Селективность адсорбции зависит от:

- a) энергии взаимодействия между веществом и адсорбентом;
- b) диффузии вещества в слое сорбента;
- c) подвижности вещества;
- d) растворимости компонентов разделяемой смеси в подвижной и неподвижной фазах.

12. Эффективность хроматографической колонки зависит от:

- a) коэффициентов диффузии в обеих фазах;
- b) длины колонки;
- c) диаметра колонки;
- d) давления при вводе пробы;
- e) хорошей растворимости компонентов в подвижной фазе.

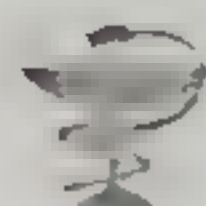
13. Эффективность хроматографической колонки возрастает с:

- a) уменьшением высоты теоретической тарелки (ТТ);
- b) увеличением высоты ТТ;
- c) увеличением числа ТТ;
- d) уменьшением числа ТТ.

14. Основные узлы приборов ВЭЖХ:

- a) блок питания;
- b) колонка;





- с) резервуар с растворителем;
- d) насос высокого давления;
- e) секундомер;
- f) дозатор;
- g) детектор;
- h) термостат.

**15. Требования, предъявляемые к адсорбентам в ВЭЖХ:**

- a) селективность;
- b) механическая прочность;
- c) отсутствие глубоких пор;
- d) химическая инертность по отношению к разделяемой смеси.

**16. Детекторы, используемые в ВЭЖХ:**

- a) рефрактометр;
- b) ИК-спектрофотометр;
- c) поляриметр;
- d) УФ-спектрофотометр;
- e) транспортного типа.

## **V II. Лабораторная работа «Определение никотиновой кислоты методом хроматографии в тонком слое»**

**Материалы и оборудование:**

- раствор никотиновой кислоты (0,125 г никотиновой кислоты растворяют в 2,5 мл спирта);
- стандартный образец никотиновой кислоты;
- система растворителей (подвижная фаза): гексан : этанол 95% -ный : концентрированный аммиак в объемном соотношении 1:1:0,02;
- хроматографические камеры фирмы DESAGA H 50 × 50 (см. приложение 14.1);
- стеклянные пластинки 50 × 50 мм для высокоэффективной ТСХ (например, Silufol).





### Методика определения

1. Наполните хроматографическую камеру объемом 1,5 мл заранее приготовленной смесью растворителей (подвижная фаза).

2. Отметьте на хроматографической пластинке с обратной стороны линию старта на расстоянии приблизительно 6 мм от края пластинки; с помощью капилляра нанесите 0,5 мкл раствора никотиновой кислоты и 0,5 мкл стандартного образца, используя шаблон.

3. Высушенную хроматографическую пластинку поместите в камеру сорбентом вниз; камеру закройте покровным стеклом и оставьте на несколько минут для прохождения фронта растворителя на 3–4 см.

4. Извлеките пластинку из камеры, отметьте линию фронта растворителя, высушите на воздухе и рассмотрите под УФ-лампой при длине волны 254 нм.

5. Обведите зоны адсорбции.

6. Определите величины  $R_f$  и  $R_s$ .

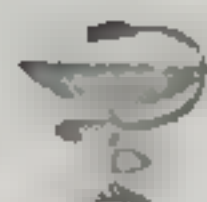
7. Сделайте вывод о соответствии определяемого токсиканта стандартному образцу по величинам  $R_f$  и  $R_s$ .

## V III. Лабораторная работа

### «Определение содержания гемцитабина в лиофилизированном порошке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)»

Гемцитабин (2', 2'-дифтородезоксцитидин) — цитотоксический агент с широким спектром противоопухолевой активности, применяемый при раке поджелудочной железы, легких, яичников, молочной железы, мочевого пузыря. От качества препарата (например, соответствия его содержания количеству, заявленному в нормативной документации) зависит его эффективность и безопасность. Количественное содержание гемцитабина в лекарственных препаратах определяют методом калибровки по стандартному образцу. В ка-





честве стандарта для проверки пригодности хроматографической системы используют дезоксицитидин — вещество, близкое по физико-химическим свойствам к исследуемому веществу (см. приложение 14.2).

#### Материалы и оборудование:

— хроматограф с детектором для ультрафиолетового и видимого диапазонов, с термостатированием колонок, насосом, краном-инжектором, например Metrohm 844 UV/VIS Compact IC (Швейцария);

— хроматографическая колонка — PRONTOSIL C18 ace-EPs 5μ 150 × 4.6 (США);

— дезоксицитидин — стандарт для проверки пригодности хроматографической системы (Sigma-Aldrich, США);

— гемцитабин — лиофилизированный порошок для приготовления раствора для инъекций;

— подвижная фаза: ацетатный буфер (pH 5,0) — ацетонитрил в объемном соотношении 97,5:2,5; изократические условия элюирования;

— скорость потока элюента — 1 мл/мин;

— объем вводимой пробы — 20 мкл;

— рабочая длина волны — 268 нм.

#### Методика определения

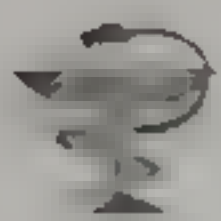
1. Приготовьте подвижную фазу по следующей методике:

— приготовление ацетатного буфера: 5,44 г аммония ацетата осч растворите в 400 мл бидистиллированной воды и добавьте 2,4 мл ледяной уксусной кислоты до pH 5,0;

— полученный буфер профильтруйте через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, смешайте 390 мл профильтрованного буфера с 10 мл ацетонитрила марки «для хроматографии».

2. Приготовьте раствор эталонного стандарта, точно взвесив 10 мг стандартного образца гемцитабина, который затем необходимо перенести в мерную колбу емкостью 50 мл и довести до объема водой для инъекций (р-р А). Приготовьте растворы эталонных стандартов для калибровки, содержащие 0,05, 0,1 и 0,15 мг/мл (точно взвесьте 2,5, 5,0 и 7,5 мг эталонного стандарта и перенесите навески в три мерные колбы емкостью 50 мл и доведите до метки водой для инъекций).





Приготовьте раствор для проверки пригодности системы: точную навеску (10 мг) дезоксицитидина перенесите в мерную колбу на 50 мл, растворите в воде для инъекций, доведя объем раствора до метки и перемешайте; 40,0 мл этого раствора поместите в мерную колбу на 50 мл, содержащую 10,0 мл стандартного раствора гемцитабина (р-р А), доведите объем водой для инъекций до метки и перемешайте.

3. Приготовьте образец для анализа, для чего взвесьте флакон с пробкой, затем перенесите содержимое флакона в колбу на 200 мл и доведите объем до метки водой для инъекций; флакон и пробку ополосните метанолом, дайте высохнуть и снова взвесьте, рассчитайте массу взятого образца. Затем аликвоту (10 мл) полученного раствора перенесите в колбу на 100 мл и доведите водой до метки.

4. При проверке хроматографической системы была получена следующая хроматограмма (рис. 14.3).

Определите тип хроматографического разделения (абсорбционная, распределительная, эксклюзивная или аффинная хроматография) и его модификацию (обращенно-фазовый или нормально-фазовый вариант).

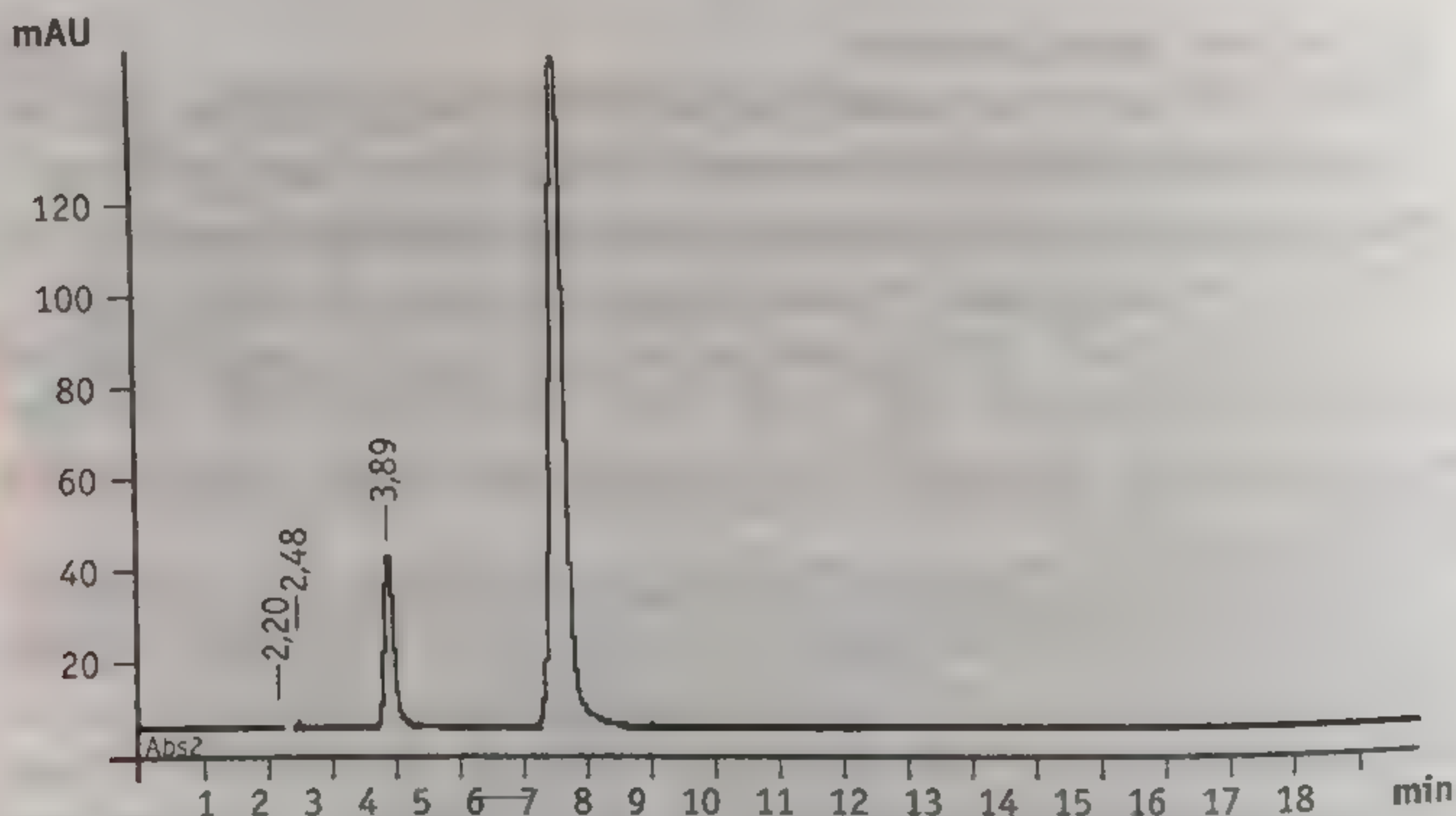
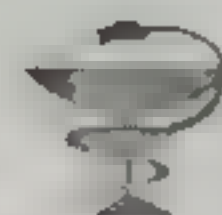


Рис. 14.3. Хроматограмма гемцитабина (время удерживания 6,55 мин) и дезоксицитидина (время удерживания 3,89 мин)





Рассчитайте и оцените параметры пригодности хроматографической системы (эффективность по показателям ЧТТ, ВЭТТ, ПВЭТТ), а также параметры разделения двух компонентов анализируемой смеси (селективность,  $k'$ ,  $R_s$ ).

5. При хроматографическом определении растворов эталонных стандартов для калибровки были получены следующие данные:

Концентрация эталонного стандарта, мг/мл	AUC, mAU · с
0,05	590,77
0,1	1181,41
0,15	1773,15

Вычислите площадь пика гемцитабина анализируемого образца на полученной хроматограмме, приближенно считая пик равнобедренным треугольником:

$$S(\text{мм}^2) = a_{1/2} \cdot h,$$

где  $a_{1/2}$  — полуширина пика (мм);

$h$  — высота пика (мм) (рис. 14.4).

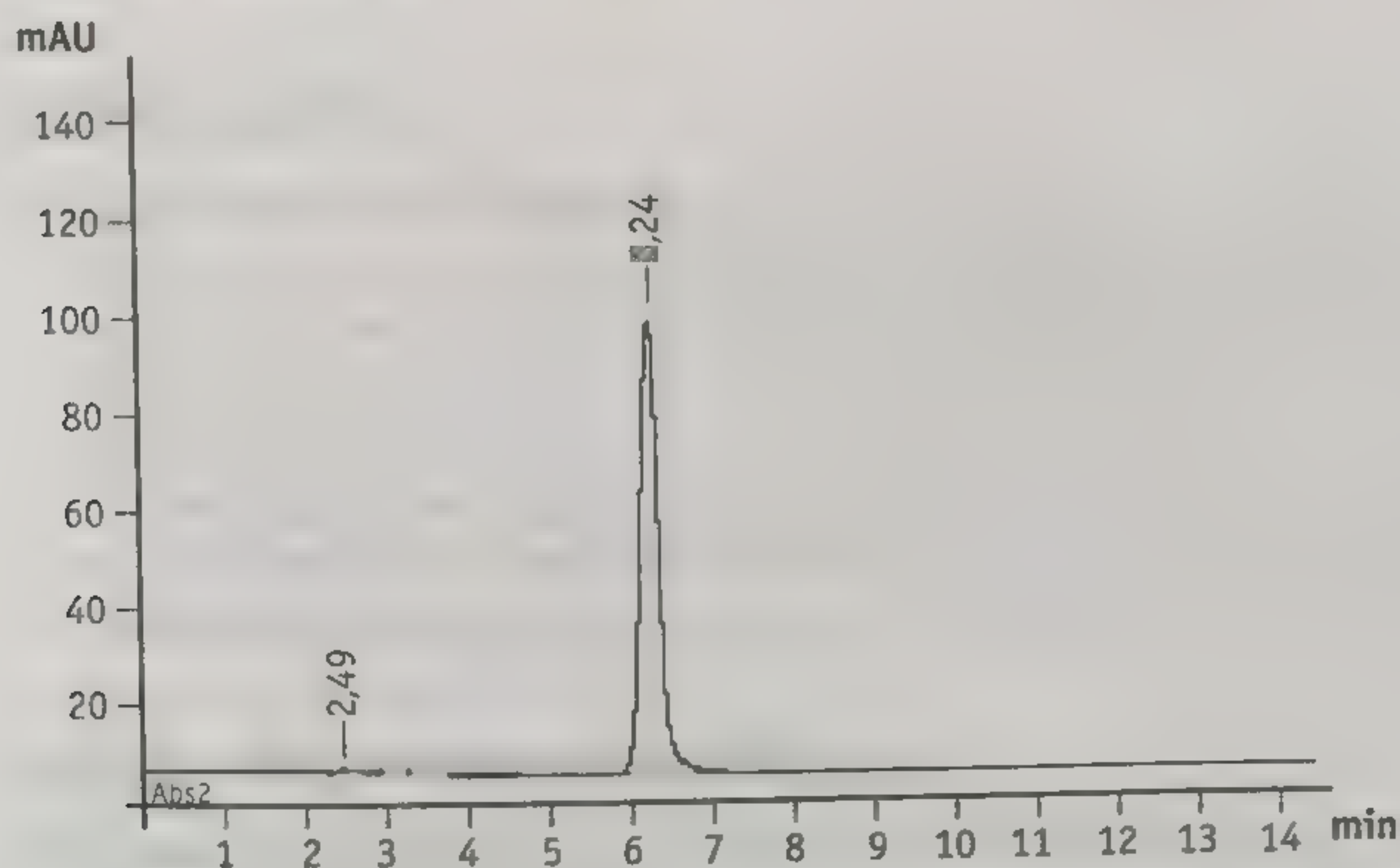


Рис. 14.4. Хроматограмма эталонного раствора гемцитабина





По полученным результатам сделайте вывод о содержании действующего вещества в испытуемом образце и его соответствии нормативной документации. Содержание гемци-табина гидрохлорида 95–105% от величины, заявленной на этикетке (190–210 мг).

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. С. 186—217.
3. Фланаган Р. Дж. и соавт. Основы аналитической токсикологии. — Женева: Всемирная организация здравоохранения, 1997. — С. 72–76.
4. Садек П. Растворители для ВЭЖХ. — М.: Бином, 2006. — 704 с.
5. Стыскин Е.Л., Ициксон Л.Б., Брауде Е.В. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. — М.: Химия, 1986. — 278 с.
6. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. Пер. с англ.; Под ред. А. Хеншен. — М.: Мир, 1988. — 688 с.



## ЗАНЯТИЕ

15

# ИММУНОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

---

### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторно-практическое занятие «Проведение химико-токсикологического анализа биоматериалов методами иммуноферментного, радиоиммунного анализа, флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа (ИФА/РИА/ФПИА) и методом иммунохроматографии».
- III. Итоговый тест.

### *Целевые задачи*

- изучить классификацию методов ИФА; провести сравнительную оценку различных схем проведения ИФА;
- изучить метод иммунохроматографии (тест-полоски), освоить подходы к интерпретации результатов;
- изучить принцип метода флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа и его применение в химико-токсикологическом анализе (прибор TDx). Оценить преимущества метода по сравнению с ИФА и РИА.

### *Краткое теоретическое введение*

Количественное определение наркотических или лекарственных веществ в сыворотке крови и других биологических жидкостях при низких содержаниях ( $10^{-6}$ – $10^{-9}$  нг/мл) в





присутствии других соединений можно проводить методами иммунохимического анализа.

### Основные понятия, используемые в иммунохимическом анализе

**Антигены** — чужеродные для организма вещества, способные вызывать образование специфических антител и соединяться с ними. Роль антигена могут играть клетки микроорганизмов, вирусы, белки, высокополимерные нуклеиновые кислоты, сложные полисахариды. Это полноценные антигены; их молекулярная масса превышает 10 000 г/моль.

Существуют также неполноценные антигены — *гаптены*. Они лишены иммуногенности, т.е. не способны вызывать образование иммуноглобулинов, но могут соединяться с искусственно полученными специфическими к ним антителами. Антитела к гаптенам образуются при их посадке на полимерную матрицу, в качестве которой используют белки, синтетические полиэлектролиты и др. Таким способом получают антитела к лекарственным и наркотическим веществам и другим низкомолекулярным соединениям.

**Антитела** — группа структурно-родственных гликопротеидов, вырабатываемых клетками иммунной системы в ответ на введение антигена и способных специфически связываться с ним. В иммунохимических методах предпочтение отдается моноклональным антителам (МАт). Они секретируются *in vitro* иммунокомпетентными клетками, происходящими от единственной антителообразующей клетки. Поэтому МАт направлены только против определенной антигенной детерминанты иммуногенного вещества.

Для детектирования результатов иммунохимической реакции один из компонентов реакции (гаптен или антитело) метят специальной меткой. В зависимости от природы применяемой метки и способа ее детектирования существует несколько видов иммунохимического анализа (табл. 15.1).



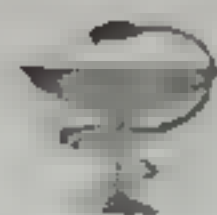


Таблица 15.1

## Классификация иммунохимических методов анализа

Метод	Способ детектирования
Иммуноферментный анализ (ИФА)	Ферментная активность
Флуоресцентно-поляризационный иммуноанализ (ФПИА)	Интенсивность флуоресцентной поляризации
Радиоиммунный анализ (РИА)	Радиоактивность
Люминесцентный иммуноанализ (ЛИА)	Интенсивность люминесценции
Иммуносенсорные методы	Электрический сигнал
Спин-иммунологический анализ (СИА)	Электронный спин-резонанс свободных радикалов
Металлоиммуноанализ (МИА)	Атомарные спектры поглощения
Нефелометрические иммунометоды	Преломление света

## 1. Иммуноферментный анализ

ИФА — иммунохимический метод анализа, заключающийся в выявлении антигенов (Аг) с помощью специфичных к ним антител (Ат); при этом один из участников иммунологической реакции конъюгирован с ферментом-меткой.

Данный метод основывается на принципиальном научном открытии, заключающемся в способности комплекса антитело-фермент (Ат\*) или антиген-фермент (Аг\*) сохранять функциональную активность каждого компонента, т.е. расщеплять субстрат и связывать антигены/антитела.

Возможность применения ферментов в качестве меток обусловлена чрезвычайно высокой чувствительностью регистрации ферментов в растворе, которая обеспечивается способностью одной молекулы фермента катализировать превращение большого числа молекул субстрата. Наибольшее распространение в ИФА получили пероксидаза, щелочная фосфатаза,  $\beta$ -галактозидаза.

Количественная оценка содержания определяемого вещества после протекания иммунохимической реакции может





быть проведена без предварительного физического разделения меченых (\*) лигандов (Ат\* или Аг\*) от образовавшихся иммунокомплексов. Такой ИФА может быть реализован в однофазной системе и поэтому называется *гомогенным*. Другой подход заключается в физическом разделении с помощью твердой фазы, связывающей меченый реагент. Это — *гетерогенный*, или *твердофазный*, ИФА.

Принцип *твердофазного* иммуноферментного анализа состоит в том, что антитело иммобилизуется на каком-либо твердом носителе, например полистирольных планшетах. Возможен *конкурентный* и *неконкурентный* вариант анализа.

Образцы сыворотки крови, содержащие определяемое вещество (Аг), помещают в лунки планшета, на стенках которых сорбированы антитела (Ат), способные специфически связывать гормон Аг (рис. 15.1).

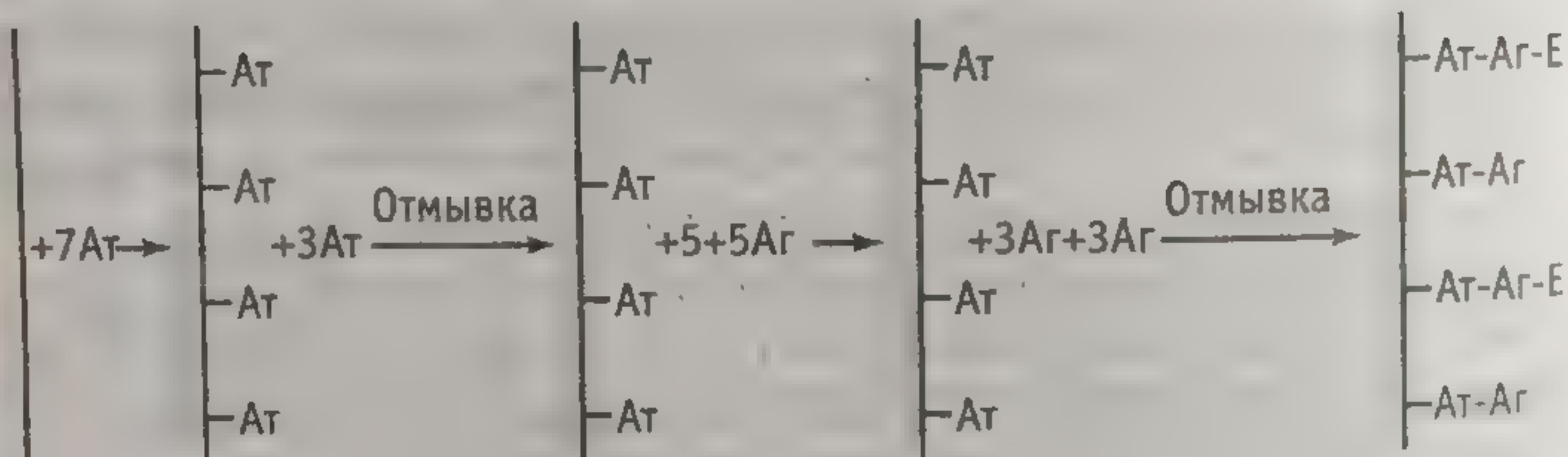


Рис. 15.1. Конкурентный вариант гетерогенного ИФА

Одновременно в инкубационную смесь вносят известное количество антигена, химически связанного с ферментом, так называемый *конъюгат* (Аг\*). Конъюгат и определяемый антиген биопробы *конкурируют* между собой за связывание с ограниченным числом сорбированных антител. После того





как связывание антигенов произошло, поверхность полистирола отмывают для удаления несвязанных Аг и Аг\*. Для определения количества связавшегося конъюгированного антигена в лунки вносят раствор *хромогенного субстрата* и окрашенные продукты ферментативной реакции определяют фотометрически. Чем большее количество конъюгата свяжется с антителами, сорбированными на стенках лунки, тем выше содержание окрашенного продукта ферментативной реакции. Вместе с тем, чем больше определяемого антигена в тестируемой пробе, тем меньше конъюгата будет связываться с антителами. Количественная оценка осуществляется с помощью градуировочной кривой, которую строят по стандартным образцам.

*Неконкурентный вариант ИФА*— ELISA (enzyme linked immunoadsorbent assay) — метод определения фермента, связанного с иммуносорбентом.

В лунки полистирольного планшета с сорбированными антителами (Ат<sub>1</sub>) вносят аликвоту анализируемого образца, содержащего антиген (Аг) (рис. 15.2). При этом анализируемый антиген образует иммунокомплекс (Ат<sub>1</sub>—Аг) на поверхности лунок. Планшет отмывают от несвязавшихся компонентов и добавляют меченные ферментом вторые антитела (Ат<sub>2</sub>\*). После вторичной инкубации и удаления избытка конъюгата ан-

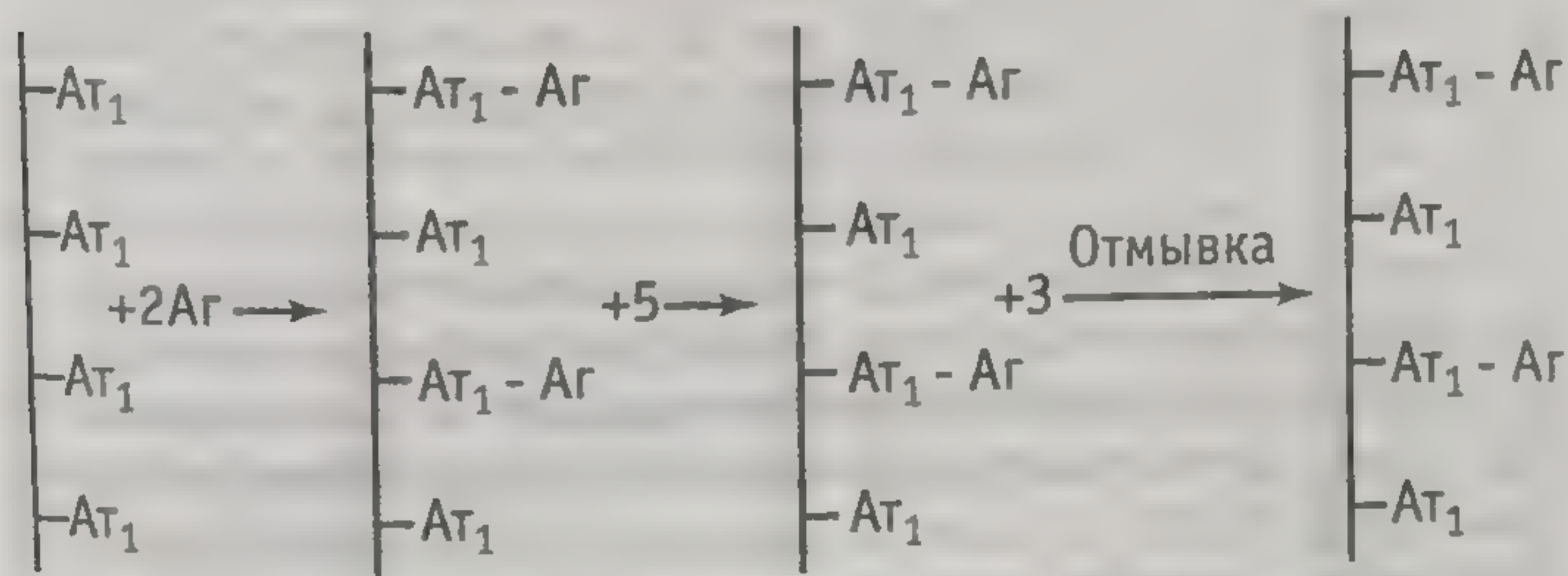
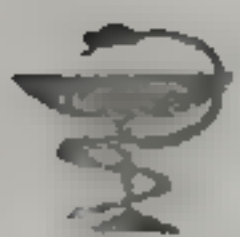


Рис. 15.2. Неконкурентный вариант гетерогенного ИФА





тител с ферментом определяют ферментативную активность носителя, которая пропорциональна содержанию исследуемого антигена. На стадии выявления специфического иммунореактивного комплекса антиген оказывается как бы зажатым между молекулами иммобилизованных и меченых антител, что послужило поводом для широкого распространения в литературе названия — сандвич-метод, или двухцентровый метод. Схема может быть использована для определения только тех антигенов, на поверхности которых существуют по крайней мере две расположенные далеко друг от друга антигенные детерминанты, а для определения большого числа моновалентных антигенов (например, низкомолекулярные гормоны, лекарственные соединения, наркотические вещества, пестициды) метод неприемлем.

В гомогенном ИФА все компоненты реакции — антитела, определяемое вещество (Аг), меченое определяемое вещество (Аг\*), хромогенный субстрат — находятся в растворе. На первой стадии в реакционной среде присутствуют одновременно три компонента: аликвота анализируемой биопробы, конъюгат (определяемое вещество с ферментной меткой) и антитело. Вследствие обратимости реакции связывания антитело — антиген определяемое вещество биопробы и конъюгат конкурируют между собой за ограниченное число мест связывания антитела.

На второй стадии анализа к реакционной смеси добавляется хромогенный субстрат, который под действием фермента-метки претерпевает химическое изменение, превращаясь в окрашенное соединение. Полученная окраска регистрируется визуально или с помощью спектральных методов. При связывании меченого антигена с антителом активность фермента-метки в реакции с хромогенным субстратом снижается за счет пространственных изменений белка (фермента), т.к. блокируется доступ субстрата к ферментативным центрам (рис. 15.3).

В этом случае окраска анализируемого раствора после добавления субстрата будет прямо пропорциональна концентрации не вступившего в связь с антителом меченого антигена, т.е. прямо пропорциональна концентрации конкурен-



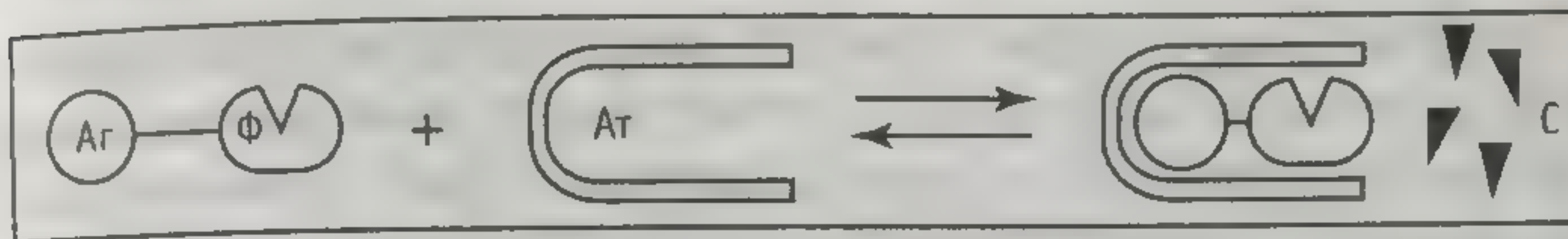
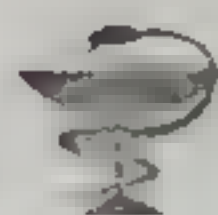


Рис. 15.3. Торможение активности ферментной метки при образовании иммунокомплекса

та — наркотика, ЛВ или иного ксенобиотика, находящегося в биопrobe. Гомогенный ИФА — всегда конкурентный.

**Достоинства ИФА:** высокая чувствительность, специфичность и воспроизводимость; экологическая чистота; возможность автоматизированного одновременного тестирования множества образцов; отсутствие сложного процесса пробоподготовки (не требуются тонкая очистка и/или концентрирование).

Гомогенный ИФА более экспрессный, время проведения анализа занимает от 1 до 30 мин. Предел обнаружения составляет  $10^{-3}$ – $10^{-6}$  г/мл. Гомогенный ИФА используется при скрининге большого числа образцов для предварительного установления факта употребления наркотических средств.

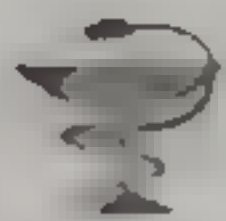
**Недостатки ИФА:** влияние фона на результат анализа, наличие в тестируемых образцах модификаторов активности ферментов (кофакторов, ингибиторов); возможность денатурации ферментов под действием внешних факторов; применение метода возможно лишь к хорошо изученным системам, где есть очищенные антигены и высокоспецифичные антитела.

Для уменьшения вероятности получения ложноположительных результатов ИФА используют в сочетании с соответствующими хроматографическими подтверждающими методами.

## 2. Радиоиммунный анализ

РИА — иммунохимический метод анализа, основанный на выявлении комплекса антиген–антитело с помощью радиоизотопной метки. Наиболее часто в качестве метки используют изотопы  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$  ( $\beta$ -излучатели) и  $^{125}\text{I}$  ( $\gamma$ -излучатель). Необходимым условием для высокой чувствительности РИА является высокая специфическая радиоактивность меченого вещества, что может быть достигнуто в основном при использовании изотопов с  $\gamma$ -излучением.





Определяемое наркотическое или лекарственное вещество является антигеном, а радиоактивным индикатором служит меченый антиген. При оптимальном подборе концентраций основных реагентов и условий проведения реакции происходит конкурентная реакция меченого и немеченого Аг с определенным количеством специфического Ат. По завершении инкубации количество меченых иммунных комплексов обратно пропорционально количеству немеченого антигена в пробе. Затем к реакционной смеси добавляют вещество с большой молекулярной массой, которое специфически связывается с антителами в составе иммунных комплексов. При этом иммунные комплексы, имеющие большую молекулярную массу, чем свободные антигены, осаждают центрифугированием и измеряют радиоактивность осадка. Оценку радиоактивности производят с помощью сцинтилляционных счетчиков. Концентрацию антигена в пробе определяют по калибровочной кривой. Для ее построения используют несколько стандартных калибровочных растворов с известными концентрациями немеченого антигена.

*Достоинства РИА:* определение веществ в минорных концентрациях  $10^6$ – $10^9$  г/мл; высокая специфичность — способность системы измерять только одну, строго определенную субстанцию; высокая воспроизводимость получаемых результатов.

*Недостатки РИА:* короткий срок «жизни» антител и антигенов, меченных радиоактивными изотопами, ограниченный периодом полураспада изотопа; высокая стоимость разового определения, обусловленная стоимостью регистрирующей аппаратуры; отсутствие полевых вариантов регистрирующей аппаратуры; усиленные меры по технике безопасности, связанные с радиационным риском для персонала; риск загрязнения окружающей среды радиоактивными продуктами.

### 3. Флуоресцентно-поляризационный иммуноанализ

ФПИА — гомогенный конкурентный метод иммунного анализа, основанный на двух принципах: конкурентного связывания белков и флуоресцентной поляризации. Для проведения этого анализа используется метка — флуоресцеин, который поглощает голубой свет и флуоресцирует зеле-





ным после времени жизни в возбужденном состоянии примерно в течение 4 нс. Если молекулу флуоресцеина возбуждать плоскополяризованным светом, то она будет излучать также поляризованный свет. Степень поляризации обратно пропорциональна углу поворота молекул за время между возбуждением и излучением. Время, требуемое молекуле для поворота на определенный угол, — период вращательной релаксации для молекулы. Период вращательной релаксации мал (1 нс) для небольших молекул (флуоресцеин) и значительно возрастает (100 нс) для крупных молекул, например для иммуноглобулина. Период вращательной релаксации молекулы в растворе прежде всего зависит от ее размера.

Взаимосвязь между размером молекулы и поляризацией флуоресценции может быть применена для реакции антиген-антитело. Флуоресцентная поляризация и период вращательной релаксации маленькой метки возрастают, как только антиген свяжется с антителом. Участниками реакции в методе ФПИА являются определяемый в биологической жидкости антиген, конъюгат антигена с меткой-флуоресцеином и специфические антитела к ним (рис. 15.4).

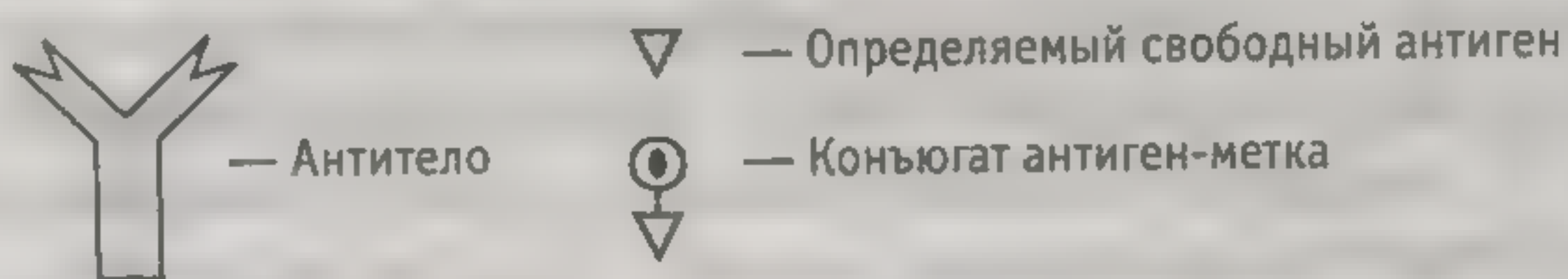


Рис. 15.4. Участники реакции в методе ФПИА

Антиген, предположительно присутствующий в образце, и антиген с флуоресцентной меткой конкурируют между собой за места связывания на антителах.

Если образец имеет высокую концентрацию определяемого антигена, то по закону химического равновесия с антителами произойдет его преимущественное связывание, а меченый антиген останется свободным (рис. 15.5).

При возбуждении линейно-поляризованным в вертикальной плоскости светом конъюгаты Аг с флуоресцеином быстро вращаются, излучая неполяризованный свет, в результате чего интенсивность вертикально поляризованного света уменьшается.



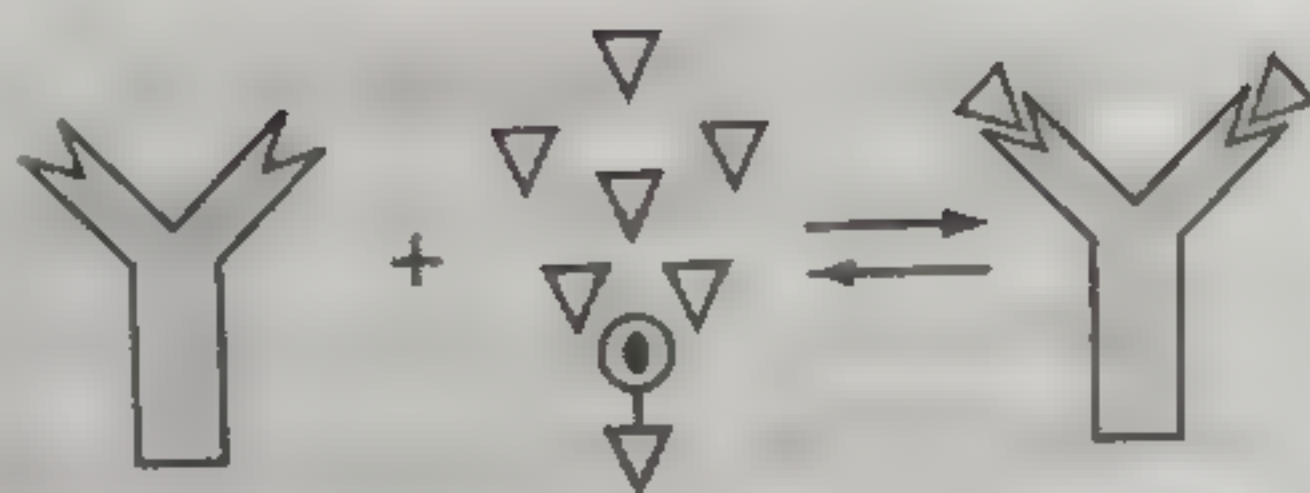


Рис. 15.5. Иммунохимическая реакция при высоком содержании определяемого Аг в биопrobe

Если образец имеет низкую концентрацию определяемого антигена, то меченый антиген преимущественно связывается с антителами (рис. 15.6).

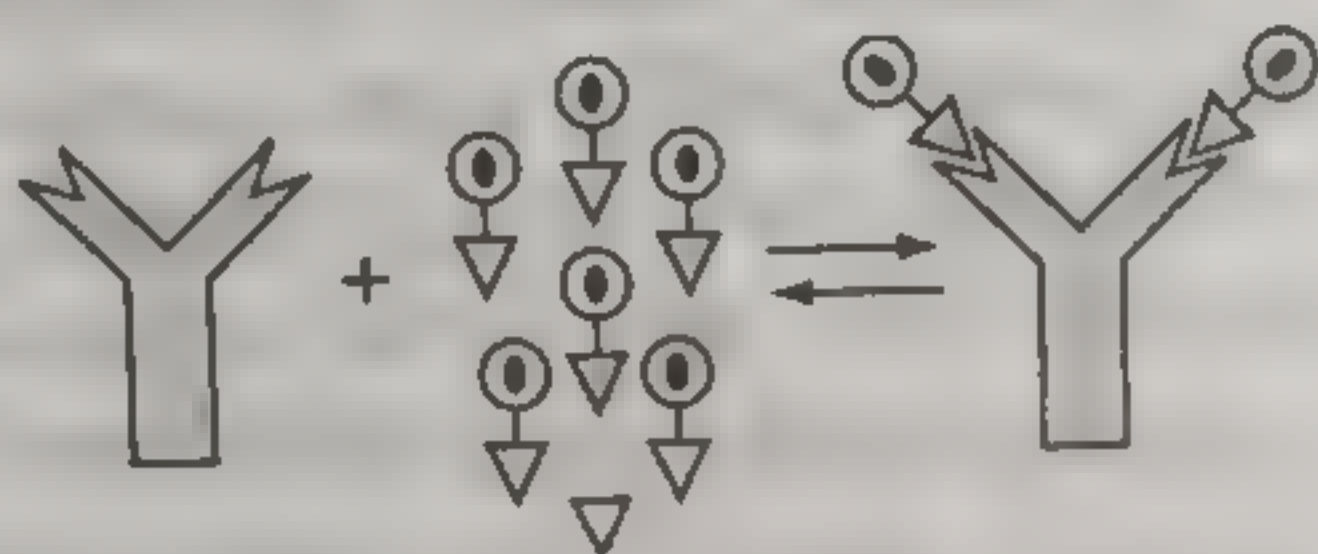


Рис. 15.6. Иммунохимическая реакция при низком содержании определяемого Аг в биопrobe

Большие молекулы (комплексы, состоящие из молекулы меченого Аг, связанной с Ат) вращаются медленнее, излучая линейно поляризованный свет в той же вертикальной плоскости. В результате интенсивность вертикально поляризованного света возрастает.

Оптическая система ФПИА измеряет интенсивность света, линейнополяризованного в вертикальной плоскости. Изменение интенсивности поляризованного света обратно пропорционально содержанию Аг в образце.

Точная взаимосвязь между поляризацией и концентрацией вещества устанавливается путем построения калибровочного графика.

**Преимущества ФПИА:** высокая чувствительность (до 200 нг/мл); стабильность метки; малая подверженность метки влиянию температуры и рН среды, характерному для фермент-субстратных отношений, а также быстрота и простота проведения анализа.

Под эгидой Постоянного комитета по контролю за наркотиками (ПККН МЗ России) выпущены (27.08.02) «Методические





указания по поляризационному флуороиммуноанализу наркотических и одурманивающих веществ в моче и сыворотке крови на TDx-, FLx-анализаторах фирмы ABBOT. Ниже приведены некоторые извлечения из этого документа, которые касаются особенностей проведения анализа описываемым методом.

1) Отбор и хранение образцов: образцы мочи и сыворотки крови собирают и хранят при температуре  $+2-4^{\circ}\text{C}$  не более 48 ч или замораживают при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

2) Характеристика набора: набор реагентов предназначен для применения *in vitro*, рассчитан на проведение 100 определений образцов биожидкостей. Набор состоит из 4 флаконов с реагентами и полностью готов к использованию.

3) Реагенты: W — промывочный реактив; S — антисыворотка в разведении, с консервантом и стабилизатором; T — трейсер в разведении, с консервантом и протеиновым стабилизатором; P — подготовительный реактив.

4) Работа прибора: в ходе анализа TDx-FLx автоматически выполняет следующие операции:

- отбор заданного объема образца мочи или калибратора и его разбавление буфером в лунке картриджа;
- отбор 250 мкл буфера и слив в кювету;
- отбор первой половины разбавленного образца из лунки и слив его в кювету вместе с 750 мкл буфера;
- измерение фоновой интенсивности флуоресценции;
- отбор 25 мкл раствора трейсера из флакона и слив его вместе с 250 мкл буфера в кювету;
- отбор 25 мкл раствора, содержащего Ag, из флакона и слив его вместе со второй половиной разбавленного образца и 750 мкл буфера в кювету;
- измерение конечной интенсивности флуоресценции поляризованного света;
- распечатку значений интенсивности поляризации и найденной концентрации (по калибровочному графику в памяти прибора).

#### 4. Иммунохроматография

Иммунохроматографический тест сочетает в себе хроматографию в тонком слое (ТСХ) и принципы иммунохимии. При погружении полоски в физиологическую жидкость, на-





пример в моче, она выступает в качестве подвижной фазы и начинает мигрировать вдоль полоски. Вместе с жидкостью движутся конъюгаты моноклональных антител с меткой —  $At^*$  (рис. 15.7). Если в этой жидкости присутствует исследуемый  $Ag$  (наркотическое или лекарственное вещество), то происходит конкурентная иммунохимическая реакция, в результате которой конъюгат антигена с химической меткой ( $Ag^*$ ), иммобилизованный в тест-зоне (Т), конкурирует с таким же немеченым веществом, предположительно присутствующим в моче, за ограниченное число участков связывания на антителе с меткой ( $At^*$ ).

При достаточном количестве  $Ag$  в пробе он полностью связывает  $At^*$ , что препятствует их присоединению к конъюгату определяемого вещества в тестовой области. Окраши-

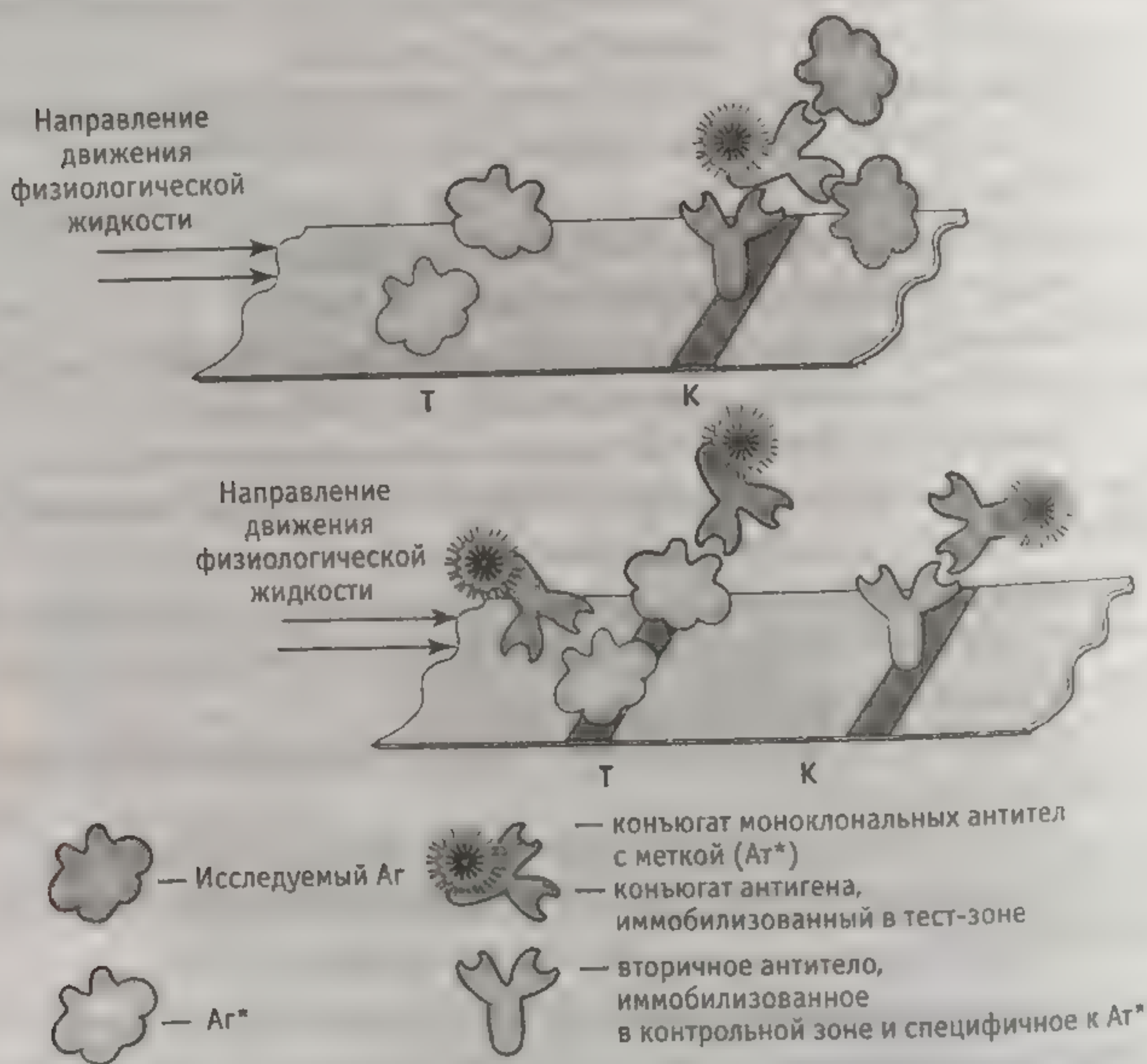


Рис. 15.7. Формирование окрашенных зон при иммунохроматографическом анализе с использованием тест-полосок



вание контрольной зоны наблюдается при взаимодействии конъюгатов моноклональных антител с меткой и связанного с ними исследуемого Аг со вторичным Ат, иммобилизованным в контрольной зоне. Таким образом, отсутствие окрашенной полосы в тестовой области и наличие ее в контрольной области указывает на *положительный результат анализа*.

При отсутствии Аг в моче окрашенный конъюгат антитела с меткой, перемещаясь по тест-полоске вместе с пробой, достигает тестовой области полоски с иммобилизованным в ней конъюгатом Аг\* и связывается с ним, образуя окрашенную полосу. Таким образом, появление визуально различимой полосы в тестовой (Т) области тест-полоски наблюдается *при отрицательном результате теста*. Контрольная полоса при этом также окрашена.

В табл. 15.2 представлены пределы обнаружения и кросс-реактивность наркотических веществ при использовании тест-полосок.

Таблица 15.2

**Пределы обнаружения и перекрестная реактивность для веществ, определяемых методом иммунохроматографии**

Анализируемое вещество	Предел обнаружения, нг/мл	Перекрестная реактивность
Амфетамин	1000	Отсутствует на морфин, каннабинол, метамфетамин, фенциклидин, деоксиэфедрин и фенobarбитал (в конц. $\geq 10$ мкг/мл), имеется на D-метамфетамин (в конц. $\geq 15$ нг/мл)
Метамфетамин	500	
3,4-метилendioкси-N-метиламфетамин	500	Отсутствует на ацетаминофен, ал-празолам, аспирин, амфетамин, бромфенирамин малеат, кокаин, кофеин, клонидин, дифенгидрамин, эфедрин, флуоксетин, галоперидол, ибупрофен, метамфетамин, налоксон, пентабарбитал, псевдо-эфедрин (в конц. $\geq 500$ нг/мл)



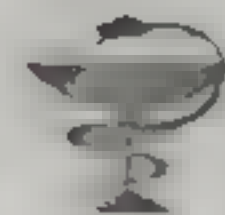


Продолжение табл. 15.2

Анализируемое вещество	Предел обнаружения, нг/мл	Перекрестная реактивность
Бензодиазепины	300	Отсутствует на морфин, каннабинол, метамфетамин, фенциклидин, деоксиэфедрин и фенobarбитал (в конц. $\geq 100$ мкг/мл)
Кокаин	300	Отсутствует на атропин, кофеин, эпинефрин, амитриптилин, фурсемид, лидокаин, прокаин, налоксон, 3-гидрокситирамин (в конц. $\geq 100$ мкг/мл), имеется на бензоилэкгонин в конц. $\geq 300$ нг/мл
Метадон	300	Отсутствует на морфин, каннабинол, метамфетамин, фенциклидин, деоксиэфедрин и фенobarбитал (в конц. $\geq 10$ мкг/мл)
Морфин	300	Отсутствует на амфетамин, метамфетамин, каннабинол, деоксиэфедрин, фенциклидин, бензоилэкгонин и фенobarбитал (в конц. $\geq 100$ мкг/мл), имеется на кодеин, этилморфин, морфина глюкуронид (в конц. $\geq 300$ нг/мл)
Барбитураты	300	Отсутствует на морфин, каннабинол, амфетамин, фенциклидин, деоксиэфедрин, бензодиазепин, метамфетамин, кофеин, имипрамин, атропин, кофеин (в конц. $\geq 100$ мкг/мл)

Ограничения иммунохроматографического метода: положительный результат теста указывает лишь на присутствие в пробе наркотического вещества или его метаболитов, тест не является количественным; существует возможность ложного результата ввиду различных факторов, таких, как технические ошибки, а также интерференций с некоторыми





веществами; анализ не позволяет дифференцировать вещества внутри их структурных групп; данный тест является предварительным (для подтверждения результатов следует применить более специфичный химический метод).

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. В основе иммунохимических методов лежит взаимодействие:

- a) преципитата с субстратом;
- b) антитела с антигеном;
- c) сыворотки с иммуноглобулином;
- d) комплемента с носителем;
- e) флуоресцентной метки с наркотическим веществом.

2. К методам иммунохимического анализа относятся:

- a) радиоиммунный анализ;
- b) иммуноферментный анализ;
- c) поляризационный флуороиммуноанализ;
- d) нефелометрический иммуноанализ;
- e) гель-электрофорез.

3. При поведении флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа значение поляризации будет низким при:

- a) высоком содержании наркотического вещества;
- b) низком содержании наркотического вещества;
- c) независимо от концентрации наркотического вещества.

4. Метка, используемая в иммуноферментном анализе:

- a) флуоресцеин;
- b) пероксидаза;
- c) моноклональные антитела;
- d) изотоп йода  $^{125}\text{I}$ ;
- e) глутатионредуктаза.





5. Работа автоматического анализатора ТДх для определения наркотических веществ в крови и моче основана на:

- а) нефелометрическом иммуноанализе;
- б) люминесцентном иммуноанализе;
- в) флуоресцентно-поляризационном иммуноанализе;
- г) радиоиммунном анализе;
- д) иммуноэлектрофорезе.

6. При положительном результате иммунохроматографического теста проведение подтверждающего анализа:

- а) возможно, но необязательно;
- б) обязательно;
- в) не требуется, если концентрация наркотического вещества превышает 300 нг/мл.

7. К достоинствам флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа относятся:

- а) стабильность метки;
- б) быстрота проведения анализа;
- в) простая процедура пробоподготовки;
- г) отсутствие влияния фона на результат анализа;
- д) проведение подтверждающего анализа при отрицательном результате анализа.

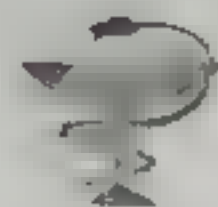
8. Иммунохроматографический анализ характеризуется:

- а) отсутствием внутригрупповой специфичности;
- б) внутригрупповой специфичностью;
- в) вероятностью ложноположительного результата из-за кроссреактивности.

9. Для проведения иммуноферментной реакции необходимы:

- а) хромогенный субстрат;
- б) конъюгаты антигена с ферментной меткой;
- в) специфичные антитела;
- г) флуоресцеин;
- д) радиоактивный изотоп йода  $^{125}\text{I}$ .





10. При отрицательном результате при анализе мочи на наркотические вещества методом флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа проведение подтверждающего анализа:

- а) возможно, но необязательно;
- б) обязательно;
- в) требуется, если концентрация наркотического вещества не превышает 200 нг/мл.

11. В иммунохроматографическом методе появление одной окрашенной полосы (только в контрольной зоне) на тест-полоске указывает на:

- а) отсутствие наркотического вещества в анализируемом образце;
- б) присутствие наркотического вещества в анализируемом образце;
- в) ошибку определения.

## **V II. Лабораторно-практическое занятие «Проведение химико-токсикологического анализа биоматериалов методами иммуноферментного, радиоиммунного анализа, флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа (ИФА/РИА/ФПИА) и методом иммунохроматографии»**

Подготовьте ответ по индивидуальной карточке заданий для участия в семинаре

1. Выявление наркотических веществ с помощью тест-полосок

### **Отбор пробы и хранение образцов**

Образцы мочи должны быть собраны в стеклянные или пластиковые флаконы, опломбированы и оформлены сопроводительными документами. Хранить образцы мочи следует в холодильнике при температуре  $-12$  —  $-18^{\circ}\text{C}$  в замороженном состоянии. Перед выполнением анализа размороженные об-





разцы следует хорошо перемешать. Образцы мочи и компоненты набора полосок должны выдерживаться при комнатной температуре до начала проведения анализа не менее 5 мин.

### *Материалы и оборудование*

Наборы полосок для иммунохроматографического выявления амфетамина, метамфетамина, морфина, кокаина, барбитуратов, бензодиазепинов в моче; секундомер; емкость для образцов.

### *Проведение анализа*

В чистую сухую емкость внесите анализируемый образец мочи человека (1,5–2,0 мл). Вскройте упаковку полоски, разрывая ее вдоль прорези, извлеките полоску и погрузите ее строго вертикально концом со стрелками в мочу до уровня ограничительной линии на 30–60 с. Извлеките полоску из мочи, положите ее на ровную чистую сухую поверхность тестовой зоной вверх и через 5 мин визуально оцените результат реакции.

При проведении химико-токсикологического анализа двух образцов мочи на барбитураты с помощью иммунохроматографического метода на тест-полосках наблюдалось следующее:

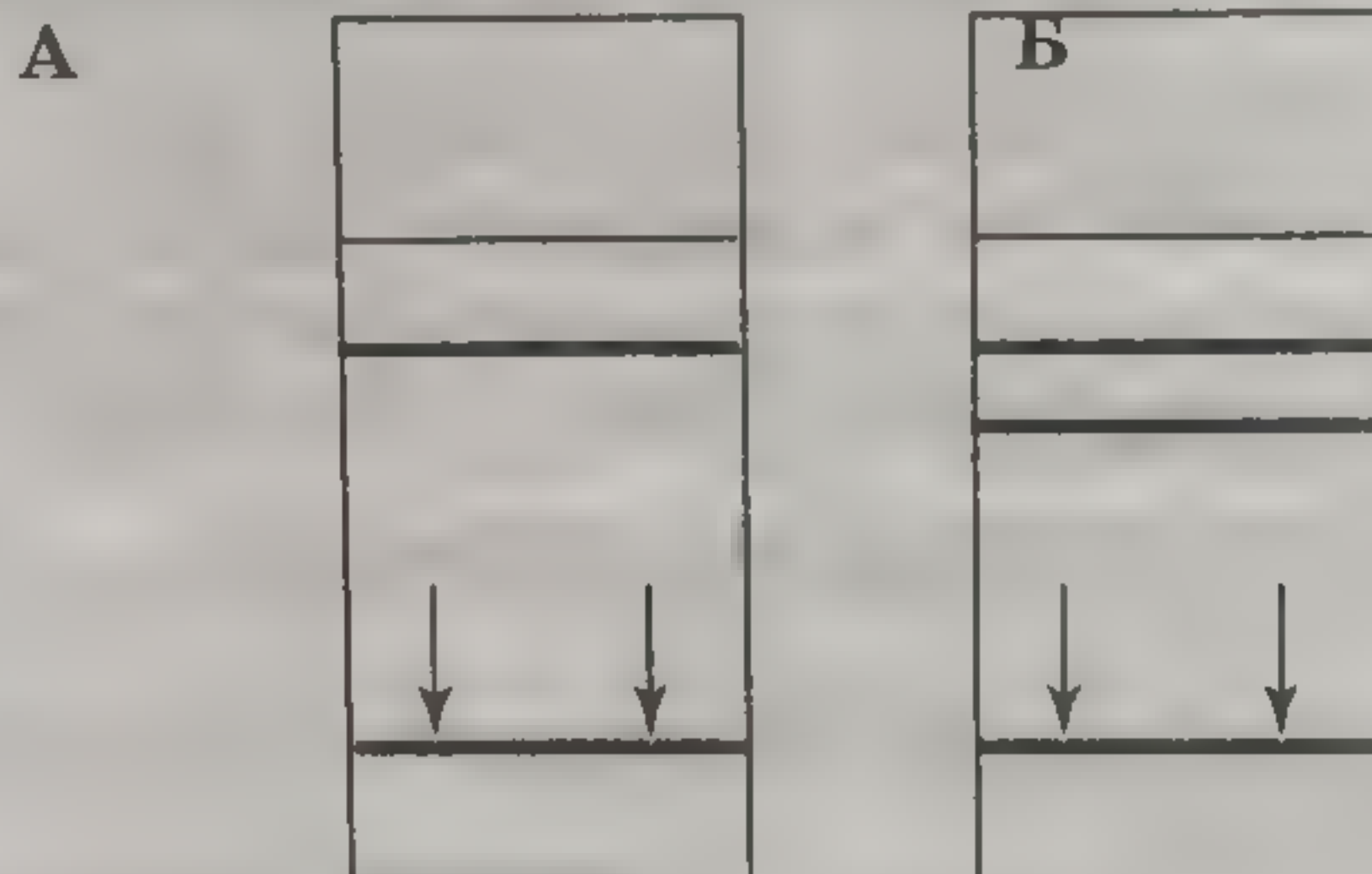
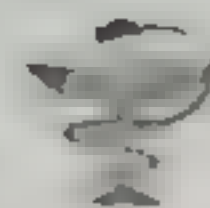


Рис. 15.8. Результаты определения барбитуратов в моче с помощью тест-полосок

— Какие компоненты входят в состав тест-полоски и как они взаимодействуют с содержащимися в пробе веществами? О чем говорит отсутствие линий на тест-полоске?

— В каком случае результат положительный?





## 2. Выявление наркотических и лекарственных веществ методом ФПИА на приборе TDx

На рис. 15.9 представлен график, построенный по результатам определения концентрации морфина в моче методом флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа.

— Какой параметр отмечен на оси ординат?

— Как этот параметр зависит от концентрации определяемого вещества (прямая или обратная зависимость)?

— Объясните, почему наблюдается данный тип зависимости параметров.

— Назовите достоинства и недостатки данного метода для определения ксенобиотиков в биожидкостях.

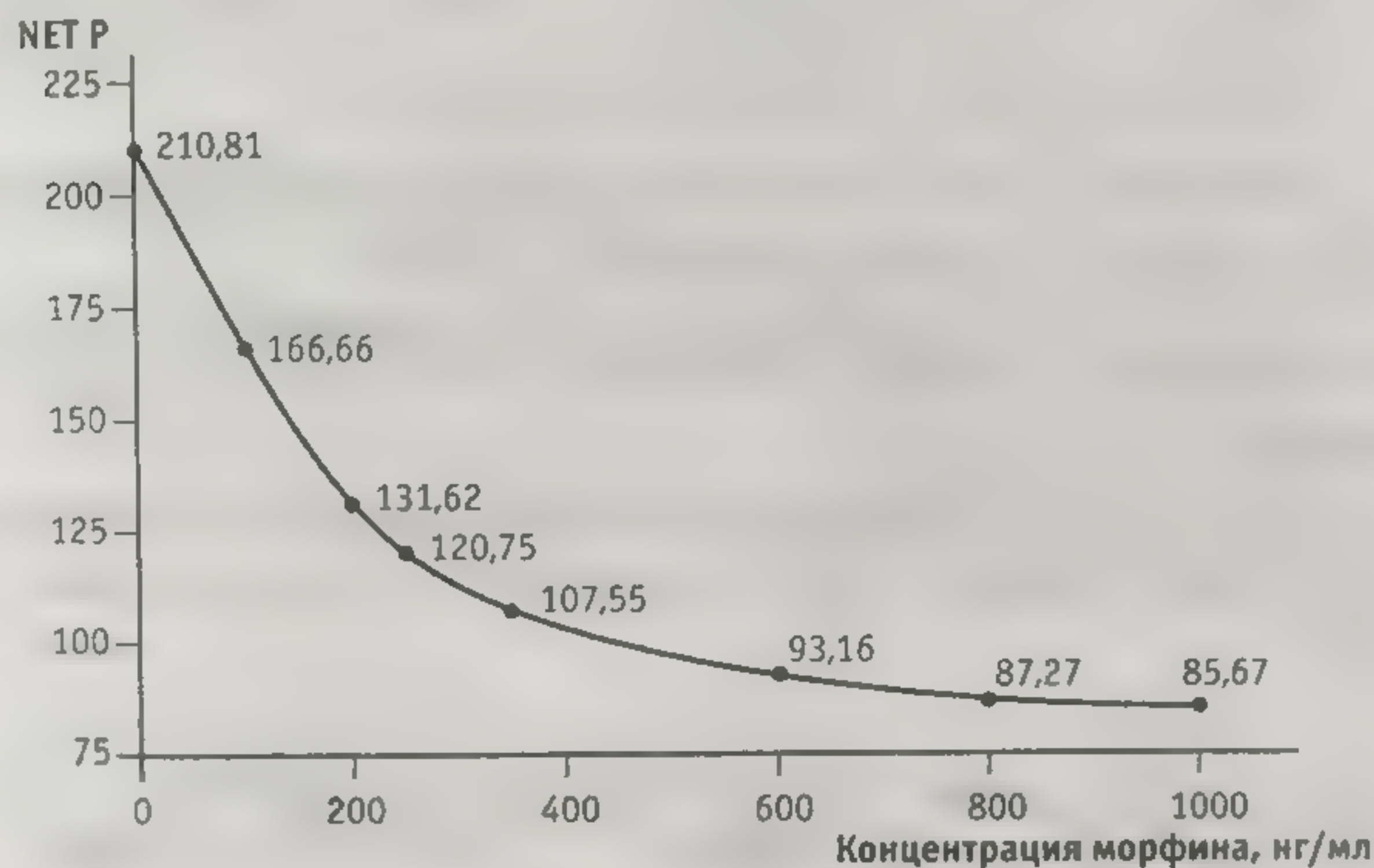


Рис. 15.9. Результаты определения концентрации морфина в моче методом флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа

## 3. Расшифровка методов иммунохимического анализа по схемам взаимодействия в системах антиген-антитело.

3.1. Какой метод иммунохимического анализа представлен на схеме (ИФА, РИА, ФПИА, иммунохроматография)?

— Конкурентный или неконкурентный вариант анализа представлен на схеме?

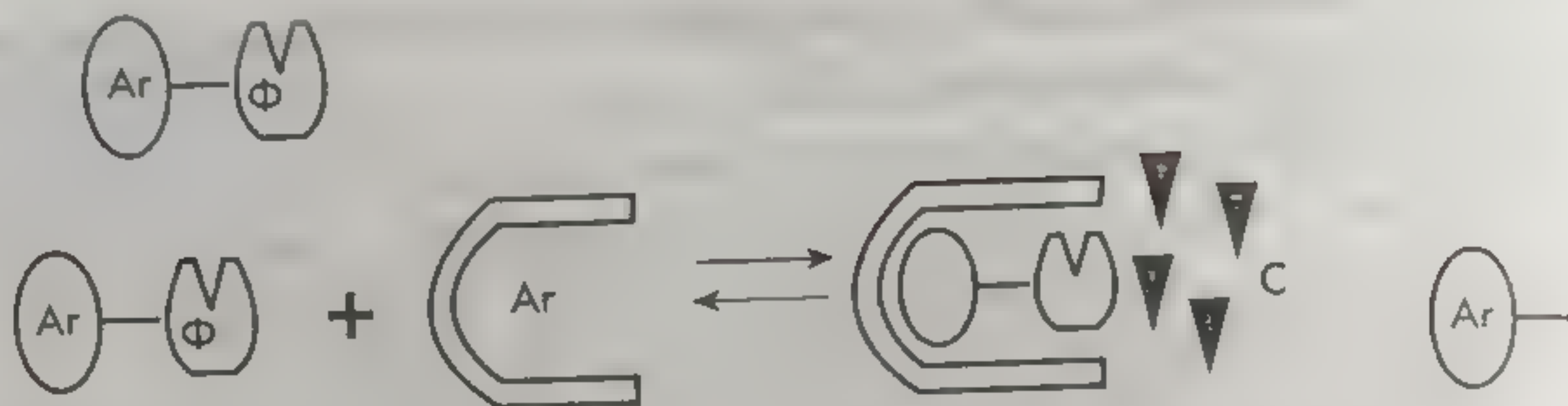
— Какие детекторы используются для данного метода иммунохимии?

— Назовите достоинства и недостатки метода.





## Занятие 15



Сокращения: Аг — антиген, Ат — антитело,  
Ф — фермент, С — субстрат.

3.2. Какой метод иммунохимического анализа представлен на схеме (ИФА, РИА, ФПИА, иммунохромаография)?

— К какой модификации относится данный тип проведения анализа: гетерогенной или гомогенной?

— Возможно ли определение низкомолекулярных веществ (гаптенов) данным методом? Почему?

— Назовите участников данной иммунохимической реакции. Приведите примеры использования данного метода в медицине.

— Объясните причины ограниченного применения данного иммунохимического метода в химико-токсикологическом анализе.

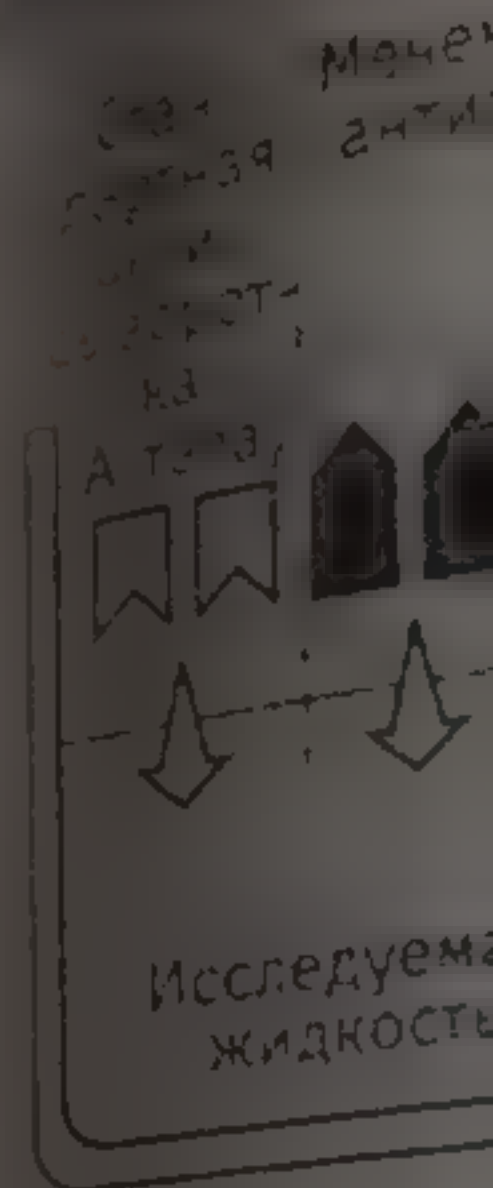


3.3. Какой метод иммунохимического анализа представлен на схеме (ИФА, РИА, ФПИА, иммунохроматография)?

— Назовите основные преимущества данного метода.

— Какие детекторы используются для данного метода иммунохимии?

— Какая часть рисунка демонстрирует отсутствие определяемого антигена, как влияет уменьшение количества определяемого вещества на величину аналитического сигнала?



## V III. Ито

### Образец ва

1. При а  
опиатов ме  
щества пре  
свидетельст

а) присут  
б) отсутс  
с) ошибк

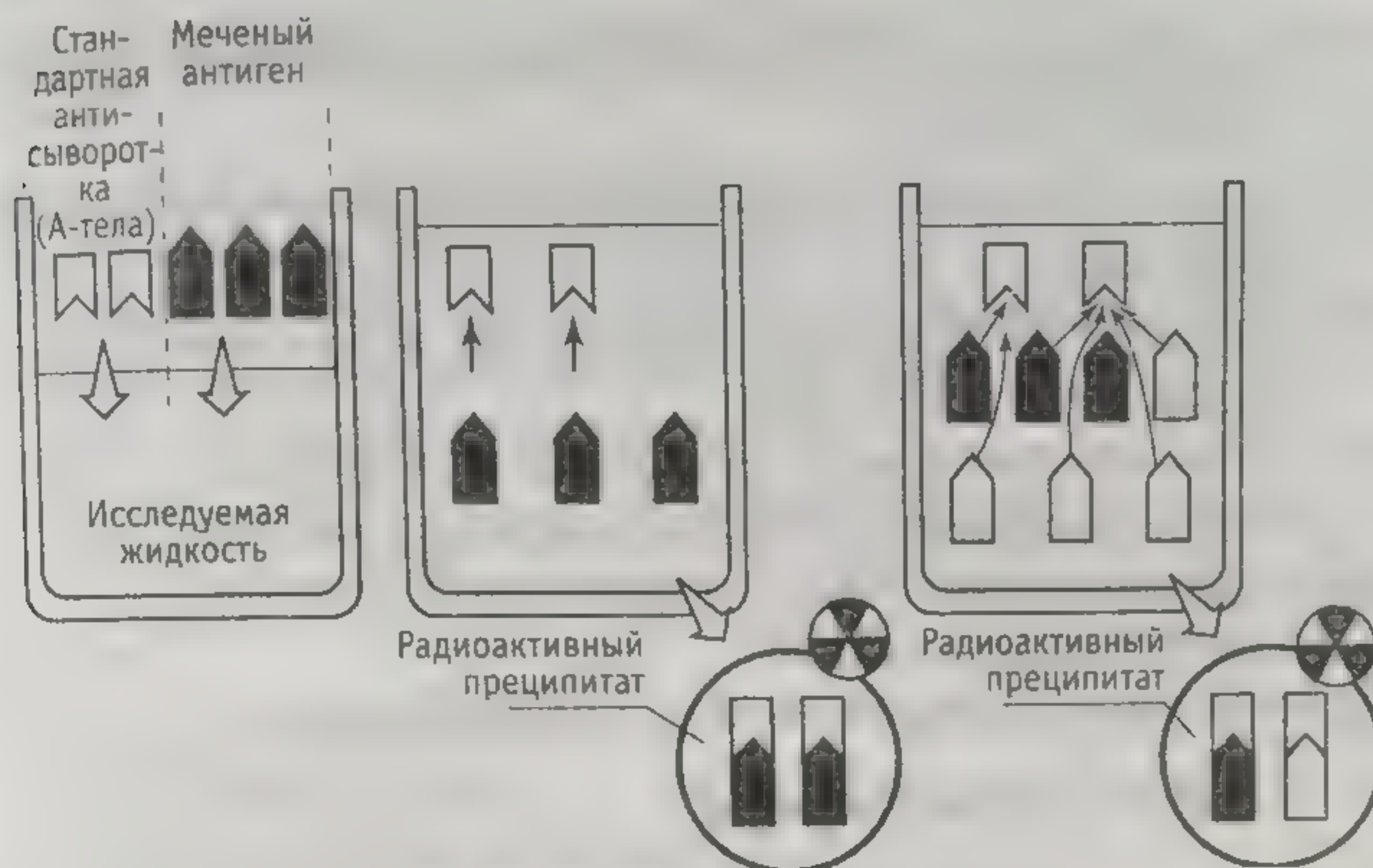
### 2. Найд

1. Специфич  
метода

2. Предел  
обнаружени

3. Надежнос  
метода





## V III. Итоговый тест

### Образец варианта итогового теста

1. При анализе образца для определения присутствия опиатов методом ФПИА концентрация определяемого вещества превысила пороговую концентрацию (Cut-Off). Это свидетельствует о:

- а) присутствии опиатов в образце;
- б) отсутствии опиатов в образце;
- с) ошибке анализа.

2. Найдите соответствия:

- |                         |   |
|-------------------------|---|
| 1. Специфичность метода | а) наименьшая концентрация, которую можно определить над уровнем фонового сигнала   |
| 2. Предел обнаружения   | б) мера того, насколько согласованно и воспроизводимо метод дает одинаковый аналитический результат при небольших изменениях рабочих параметров |
| 3. Надежность метода    | с) способность системы измерять только определенное вещество в присутствии других компонентов пробы   |
|                         | д) возможность одновременного определения нескольких компонентов  |





3. На тест-полоску для определения наркотических веществ в моче наносят:

- a) конъюгат выявляемого наркотического вещества в тестовой зоне;
- b) конъюгат антител к выявляемому наркотическому веществу в тестовой зоне;
- c) моноклональные антитела к наркотическому веществу, перемещающиеся вместе с растворенной пробой;
- d) вторичные антитела в контрольной зоне;
- e) фермент-пероксидазу;
- f) вторичные антигены в контрольной зоне.

4. Найдите соответствия:

1. Гаптен	a) при попадании в организм животных и человека вызывают образование иммуноглобулинов
2. Антитело	b) лишены иммуногенности
3. Полноценный антиген	c) гликопротеиды, вырабатываемые в ответ на введение генетически чужеродных веществ в организм
	d) имеют 2 и более эпитопа на своей поверхности
	e) лекарственные вещества, гормоны, наркотические вещества, пестициды

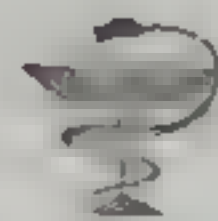
5. При проведении гомогенного иммуноферментного анализа с использованием в качестве субстрата метилумбеллиферил- $\beta$ -галактозида интенсивность флуоресценции:

- a) возрастает с увеличением количества определяемого вещества в пробе;
- b) снижается с увеличением количества определяемого вещества в пробе;
- c) не зависит от количества определяемого вещества.

6. Определение наркотических и других низкомолекулярных веществ сандвич-методом гетерогенного иммуноферментного анализа:

- a) невозможно;
- b) возможно;
- c) возможно после активации ферментом.





7. Предел обнаружения порядка  $10^{-6}$ – $10^{-9}$  г/мл характерен для:

- a) радиоиммунного анализа;
- b) иммуноферментного анализа;
- c) поляризационного флуороиммуноанализа;
- d) спектрофотометрического анализа;
- e) иммунотурбидиметрии.

8. Для скрининга образцов при предварительном установлении факта употребления наркотических средств применяют:

- a) гетерогенный ИФА;
- b) гомогенный ИФА;
- c) неконкурентный ИФА;
- d) иммунорадиометрический анализ.

9. Детектор, применяемый в радиоиммуноанализе:

- a) фотометр;
- b) флуориметр;
- c) поляриметр;
- d) сцинтилляционный счетчик;
- e) масс-спектрометр.

10. Недостатки радиоиммунного метода:

- a) короткий срок «жизни» меченых антител и антигенов;
- b) высокая стоимость разового определения;
- c) отсутствие полевых вариантов регистрирующей аппаратуры;
- d) влияние фона на результат анализа;
- e) необходимость проверки результата другими методами (ГЖХ, ВЭЖХ).

11. При иммуноферментном определении производных 1,4-бензодиазепина в моче используют конъюгат фермента с:

- a) феназепамом;
- b) тофизопамом;
- c) оксазепамом;
- d) лоразепамом;
- e) алпразоламом.





12. В иммунохроматографическом методе появление двух окрашенных полос (в тестовой и контрольной зоне) на тест-полоске свидетельствует:

- а) об отсутствии наркотического вещества в анализируемом образце;
- б) о наличии наркотического вещества в анализируемом образце;
- с) об ошибке тестирования.

13. К достоинствам иммуноферментного анализа относятся:

- а) возможность использования минимальных объемов исследуемого материала;
- б) стабильность при хранении всех ингредиентов (до года и более);
- с) простота проведения реакции; наличие как инструментального (в качественном и количественном варианте), так и визуального учета;
- д) возможность автоматизации всех этапов реакции;
- е) отсутствие влияния фона на результат анализа.

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 252–262.
3. Иммуноферментный анализ в клинико-диагностических лабораториях. — М.: Триада, 2007. — 320 с.
4. Шигина Ю.В. Иммунология: Учебное пособие. — М.: РИОР Издательский Дом, 2007. — 183 с.



# ЗАНЯТИЕ 16

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ КОРРЕЛЯЦИЯ. СТРУКТУРА-АКТИВНОСТЬ (ККСА) ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторная работа «Применение метода ККСА для прогнозирования максимальной суточной дозы нестероидных противовоспалительных средств».

### *Целевые задачи*

- познакомиться с основными принципами метода количественной корреляции структура-активность;
- научиться рассчитывать топологические индексы химических веществ;
- научиться анализировать корреляционные зависимости параметров терапевтической/токсической активности от топологических индексов.

### *Краткое теоретическое введение*

Создание новых лекарственных средств диктует необходимость разработки доступных методов прогнозирования их терапевтических и токсических свойств на этапе отбора веществ-кандидатов. Для решения этой задачи в последние де-



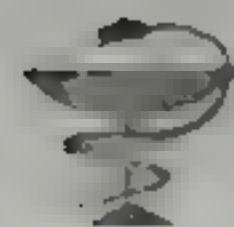


сятiletия стали использоваться топологические индексы, позволившие эффективно проводить ККСА (QSAR-)-исследования (исследования количественных корреляций структура-активность). Использование ККСА-подходов позволяет количественно характеризовать физико-химические свойства лекарственного вещества и их влияние на биологическую активность лекарственного препарата. ККСА-исследования позволяют существенно ускорить создание нового лекарственного средства на этапе поиска вещества-кандидата, что связано с возможностью использования современного программного и аппаратного обеспечения, частично автоматизирующего данный этап работы.

Одним из перспективных направлений ККСА-исследований являются разработка и применение дескрипторов химических веществ, в частности топологических индексов. Топологические индексы позволяют математически описать химическую формулу, что дает возможность осуществлять линейный регрессионный анализ зависимости топологический индекс — биологическая активность и статистическую обработку результатов исследований.

Первые попытки сопоставить биологическую активность и химические свойства соединений относятся к середине XIX столетия. В 1863 г. Крос (Cros) обнаружил, что токсичность алифатических спиртов для млекопитающих возрастает по мере снижения растворимости спиртов в воде. В конце XIX века Мейер (Meyer) и Овертон (Overton) связали токсичность органических соединений с их липофильностью. В XX веке с развитием компьютерных вычислений метод ККСА вышел на новый уровень. Разработанные подходы к поиску биологической активности базировались на компьютерных алгоритмах. Индекс Холла использовали для изучения ингибирующей активности HIV-1 интегразы на флавоновые производные и для определения канцерогенной активности алифатических нитрозаминов. Индекс Винера был применен для прогнозирования антивирусной активности 5-винилпиримидиновых аналогов. Топологический индекс OASIS ис-





пользовали для поиска бронхоспазмолитической активности и токсичности теофиллиновых производных.

Для успешного поиска корреляционных зависимостей между биологической активностью и структурой химических соединений чрезвычайно важно осуществить выбор молекулярных дескрипторов, отражающих эту структуру. Различные дескрипторы могут описывать разные свойства молекул — топологию, геометрию, распределение заряда и др.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. Для расчета топологического индекса Винера необходимо составить топологическую матрицу:

- a) обхода;
- b) расстояния;
- c) смежности.

2. Атомы этого элемента исключаются из расчета топологического индекса:

- a) кислорода;
- b) азота;
- c) углерода;
- d) водорода.

3. Выберите правильные утверждения:

- a) топологический индекс является молекулярным дескриптором;
- b) размерность топологической матрицы зависит от числа связей;
- c) топологический граф основан на пространственном расположении атомов;
- d) индекс Винера является реберно-взвешенным;
- e) биологическая активность зависит от химической формулы вещества.





4. Для составления уравнения прямой линии регрессии необходимо рассчитать:

- а) выборочный коэффициент регрессии;
- б) выборочный коэффициент корреляции;
- с) максимальную суточную дозу.

5. Для оценки тесноты линейной корреляционной зависимости необходимо рассчитать:

- а) выборочный коэффициент регрессии;
- б) выборочный коэффициент корреляции;
- с) максимальную суточную дозу.

6. Значение диагонального элемента топологической матрицы расстояния зависит от:

- а) типа химической связи между атомами;
- б) числа всех электронов в атоме;
- с) числа атомов в молекуле.

## V II. Лабораторная работа «Применение метода ККСА для прогнозирования максимальной суточной дозы нестероидных противовоспалительных средств»

### Задание 1

По представленной структурной химической формуле изониазида (рис. 16.1) с учетом данных в табл. 16.1 и 16.2 построить топологическую матрицу расстояния (табл. 16.3) и рассчитать топологический индекс Винера (W).

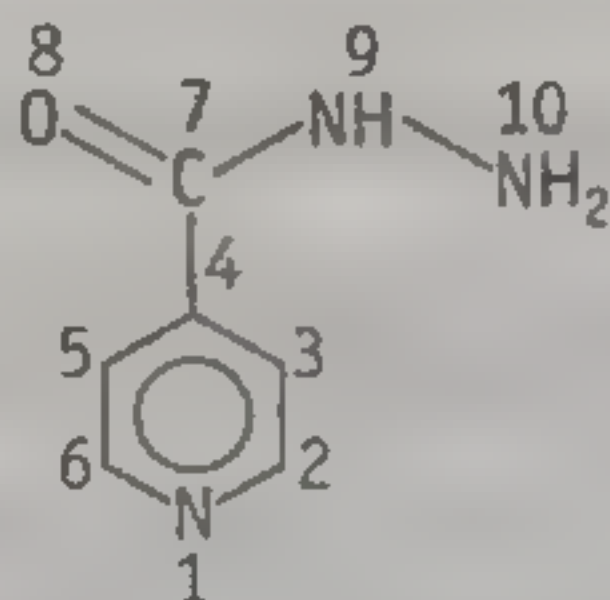


Рис. 16.1. Структурная химическая формула изониазида



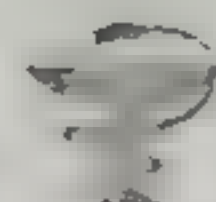


Таблица 16.1

Значения  $D_{ii}$  диагональных элементов топологической матрицы расстояния ( $D_{ii} = 1 - 6/Z_i$ )

№ п/п	Элемент	$D_{ii}$
1	Углерод	0
2	Азот	0,143
3	Кислород	0,25
4	Сера	0,625
5	Фтор	0,333
6	Хлор	0,647
7	Фосфор	0,6

Таблица 16.2

Значения параметра  $P_{ij}$  для связей различных атомов, используемых при расчете недиагональных элементов топологической матрицы расстояния ( $P_{ij} = 36/b_i Z_i Z_j$ )

№	Тип связи	$P_{ij}$
1	C — C	1
2	C — C ароматическая	0,67
3	C — N ароматическая	0,571
4	C = O	0,375
5	N — N	0,735
6	C — N	0,857

Значения  $D_{ij}$  недиагональных элементов топологической матрицы расстояния равны минимуму из всех возможных сумм  $P_{ij}$  траекторий движения от атома  $i$  до атома  $j$  по топологическому графу.



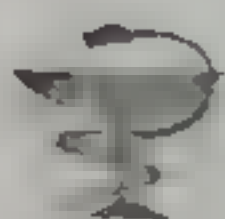


Таблица 16.3

Топологическая матрица расстояния для изониазида  
(атомы водорода при расчете не учитываются)

№ атома <i>i/j</i>	1 N	2 C	3 C	4 C	5 C	6 C	7 C	8 O	9 N	10 N
1 N										
2 C										
3 C										
4 C										
5 C										
6 C										
7 C										
8 O										
9 N										
10 N										

$$\text{Индекс Винера } W = \sum D_{ii} + \frac{1}{2} \sum D_{ij} \text{ (при } i > j),$$

где  $D_{ii}$  — диагональный;

$D_{ij}$  — недиагональный элемент топологической матрицы.

### Задание 2

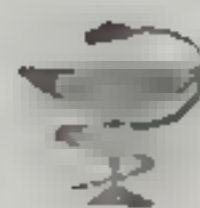
По представленным данным максимальной суточной дозы нестероидных противовоспалительных средств (табл. 16.4) с применением компьютерной программы ChemicDescript рассчитать топологические индексы Балабана ( $J$ ), нанести данные на график зависимости максимальной суточной дозы ( $D_{\max}$ ) от топологического индекса Балабана ( $J$ ). Найти выборочное уравнение прямой линии регрессии *максимальная суточная доза* ( $Y$ ) на *топологический индекс* ( $X$ ):

$$Y = \rho_{y,x} \times X + b,$$

где  $\rho_{y,x}$  — выборочный коэффициент регрессии,

$$\rho_{y,x} = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$





и

$$b = \frac{\sum x^2 \sum y - \sum x \sum xy}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

Составить таблицу 16.5 по рассчитанным данным (объем выборки  $n = 14$ ).

Построить график найденного уравнения.

Таблица 16.4

Максимальная суточная доза некоторых нестероидных противовоспалительных средств

Лекарственное средство	Максимальная суточная доза $D_{\max}$ , ммоль	Индекс Балабана $J$
1. Ацетилсалициловая кислота	22,2	
2. Ибупрофен	11,63	
3. Напроксен	5,43	
4. Фенилбутазон	1,14	
5. Мефенамовая к-та	5,18	
6. Набуметон	5,26	
7. Кеторолак	0,47	
8. Кетопрофен	1,18	
9. Индометацин	0,28	
10. Сулиндак	0,98	
11. Пироксикам	0,09	
12. Мелоксикам	0,03	
13. Диклофенак	0,47	
14. Флурбипрофен	1,23	

Таблица 16.5

Данные для расчета выборочного коэффициента регрессии

$x_i$	$y_i$	$x_i^2$	$x_i \times y_i$
$x_1 =$	$y_1 =$	$x_1^2 =$	$x_1 \times y_1 =$
$x_2 =$	$y_2 =$	$x_2^2 =$	$x_2 \times y_2 =$
$x_3 =$	$y_3 =$	$x_3^2 =$	$x_3 \times y_3 =$





Продолжение табл. 16.5

$x_i$	$y_i$	$x_i^2$	$x_i \times y_i$
$x_4 =$	$y_4 =$	$x_4^2 =$	$x_4 \times y_4 =$
$x_5 =$	$y_5 =$	$x_5^2 =$	$x_5 \times y_5 =$
$x_6 =$	$y_6 =$	$x_6^2 =$	$x_6 \times y_6 =$
$x_7 =$	$y_7 =$	$x_7^2 =$	$x_7 \times y_7 =$
$x_8 =$	$y_8 =$	$x_8^2 =$	$x_8 \times y_8 =$
$x_9 =$	$y_9 =$	$x_9^2 =$	$x_9 \times y_9 =$
$x_{10} =$	$y_{10} =$	$x_{10}^2 =$	$x_{10} \times y_{10} =$
$x_{11} =$	$y_{11} =$	$x_{11}^2 =$	$x_{11} \times y_{11} =$
$x_{12} =$	$y_{12} =$	$x_{12}^2 =$	$x_{12} \times y_{12} =$
$x_{13} =$	$y_{13} =$	$x_{13}^2 =$	$x_{13} \times y_{13} =$
$x_{14} =$	$y_{14} =$	$x_{14}^2 =$	$x_{14} \times y_{14} =$
$\sum x_i =$	$\sum y_i =$	$\sum x_i^2 =$	$\sum x_i \times y_i =$

**Задание 3**

По данным задания 2 оценить тесноту линейной корреляционной зависимости, рассчитав *выборочный коэффициент корреляции*  $r_B$ :

$$r_B = \frac{\sum xy - n\bar{x}\bar{y}}{n\sigma_x\sigma_y},$$

где  $n$  — объем выборки;

$\bar{x}$ ,  $\bar{y}$  — выборочные средние ( $\bar{x} = \sum x_i / n$ ;  $\bar{y} = \sum y_i / n$ );

$\sigma_x$ ,  $\sigma_y$  — выборочные средние квадратические отклонения:

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}}, \quad \sigma_y = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n}}.$$

Составить таблицу 16.6 по рассчитанным данным (объем выборки  $n = 14$ ).

Сделать вывод о тесноте линейной корреляционной зависимости топологического индекса с данным параметром биологической активности у исследованной группы лекарственных

ных веще  
корреляц  
реляцион  
личины  
мость ста  
функцион

$x_i$
$x_1 =$
$x_2 =$
$x_3 =$
$x_4 =$
$x_5 =$
$x_6 =$
$x_7 =$
$x_8 =$
$x_9 =$
$x_{10} =$
$x_{11} =$
$x_{12} =$
$x_{13} =$
$x_{14} =$

Литера

1. Мат
  2. Тор
- Т.В. Плет  
С. 74-81.



ных веществ, учитывая, что если выборочный коэффициент корреляции равен нулю, то  $X$  и  $Y$  не связаны линейной корреляционной зависимостью, а с возрастанием абсолютной величины выборочного коэффициента корреляции зависимость становится более тесной и при  $|r_B| = 1$  переходит в функциональную зависимость.

Таблица 16.6

Данные для расчета выборочных  
средних квадратических отклонений

$x_i$	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$y_i$	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$
$x_1 =$			$y_1 =$		
$x_2 =$			$y_2 =$		
$x_3 =$			$y_3 =$		
$x_4 =$			$y_4 =$		
$x_5 =$			$y_5 =$		
$x_6 =$			$y_6 =$		
$x_7 =$			$y_7 =$		
$x_8 =$			$y_8 =$		
$x_9 =$			$y_9 =$		
$x_{10} =$			$y_{10} =$		
$x_{11} =$			$y_{11} =$		
$x_{12} =$			$y_{12} =$		
$x_{13} =$			$y_{13} =$		
$x_{14} =$			$y_{14} =$		
		$(x_i - \bar{x})^2 =$			$(y_i - \bar{y})^2 =$

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 74–81.



## ЗАНЯТИЕ

# 17

### ВВЕДЕНИЕ В НАРКОЛОГИЮ. ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПСИХОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

#### *Структура занятия*

- I. Семинар «Психоактивные вещества. Терминология. Хими-  
ко-токсикологическая характеристика».
- II. Итоговый тест.

#### *Целевые задачи*

- ознакомиться с проблемой злоупотребления психоак-  
тивными веществами;
- изучить структуру оказания наркологической помощи  
населению;
- ознакомиться с формами борьбы с наркоманией в раз-  
ных странах;
- изучить особенности химико-токсикологического ана-  
лиза при отравлениях психоактивными веществами.

#### *Краткое теоретическое введение*

Наркотики знакомы людям уже несколько тысяч лет. Их использовали представители различных культур в разных целях: во время религиозных обрядов, для восстановления сил, изменения сознания, для снятия боли и неприятных





ощущений и т.д. До начала XX века практически не существовало ограничений на производство и потребление наркотиков. Иногда делались попытки сократить или запретить использование определенных веществ, но они были непродолжительными и, как правило, неудачными.

В настоящее время в РФ имеется ряд нормативных правовых актов, регулирующих действие государственных органов при незаконном обороте наркотических средств и психотропных веществ. Наиболее важные из них:

- Федеральный закон Российской Федерации от 09.05.05 № 45-ФЗ (с изменениями) «О наркотических средствах и психотропных веществах» (см. приложение 17.1);
- Постановление Правительства РФ от 30.06.98. № 681 «Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации»;
- Федеральная целевая программа «Комплексные меры противодействия злоупотреблению наркотиками и их незаконному обороту на 2005–2009 гг.» — Постановление Правительства РФ от 13.09.05 № 561.

В соответствии с указанными нормативными правовыми актами Минздравом РФ были приняты регламентирующие ведомственные документы по вопросам профилактики, диагностики и лечения наркомании и реабилитации наркологических больных.

**Вещества наркотического действия** (наркотические вещества, наркотики) — это вещества или лекарственные средства разных химических классов, способные оказывать специфическое (стимулирующее, седативное, галлюциногенное и др.) действие на центральную нервную систему, имеющие широкое немедицинское применение, законодательно включенные в список наркотических веществ.

В литературе используется также термин **психоактивное вещество**. Психоактивное вещество способно давать психотропные эффекты — эйфорию, возбуждение, галлюцинации, седацию, сон. Применение психоактивных веществ приводит к эмоционально-позитивному состоянию и нейтрализует эмоционально-негативное состояние. Понятие «психоактив-





ное вещество» включает в себя наркотические, психотропные (лекарственные средства, действующие на ЦНС) вещества, а также большую группу веществ, не относящихся к наркотическим или психотропным, например табак и летучие органические растворители.

Универсальной классификации психоактивных веществ не существует.

**Злоупотребление наркотиками** — любое употребление наркотика, наносящее ущерб физическому и психическому состоянию, правоспособности и социальному положению данного человека и людей, испытывающих воздействие поведения данного человека.

Психоактивные вещества вызывают **токсикомании** — заболевания со стойким влечением к регулярному употреблению психоактивного вещества для получения удовольствия, психологического или физического комфорта. Наркомания — частный случай токсикомании, связанный с употреблением наркотических веществ. Патологические состояния, возникающие при этом, называются наркотической, лекарственной или более широко — химической зависимостью.

Систематическое употребление психоактивных веществ приводит к хронической интоксикации. При хронической интоксикации психоактивными веществами признаки зависимости могут возникать не сразу. Токсикоманическая интоксикация может иметь черты острого отравления: нарушение сознания, появление галлюцинаций, неадекватное поведение, патологические реакции сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

Со временем развивается **психическая зависимость** — болезненное влечение к употреблению психоактивных веществ с целью подавить состояние психического дискомфорта, а также **физическая зависимость** — явления абстиненции (синдром отмены) при прекращении употребления вещества. Синдром измененной реактивности организма означает развитие толерантности к нему.

**Психофармакологические средства** (psychopharmacologica) — лекарственные средства (антидепрессанты, транквилизаторы и др.).





ры и т.д.), оказывающие преимущественное действие на психику (настроение, сознание и поведение) человека.

**Антидепрессанты** (анти- + лат. *deprimo, depressum* — угнетать) — лекарственные средства (имизин, амитриптилин и др.), применяемые для лечения психических расстройств, сопровождающихся депрессией.

**Транквилизаторы** (лат. *tranquillo* — успокаивать; син.: анксиолитики, атарактики) — лекарственные средства (хлордиазепоксид, диазепам и т.д.), подавляющие патологические страхи, напряжение, беспокойство. Применяются главным образом при невротических расстройствах.

**Седативные средства** (лат. *sedo, sedatum* — успокаивать) — лекарственные средства (препараты валерианы, пустырника, бромиды, барбитураты в малых дозах и т.д.), оказывающие общее успокаивающее действие на центральную нервную систему.

**Анксиолитические средства** (лат. *anxietas* — тревожное состояние, страх + греч. *lytikos* — способный растворять, ослабляющий) — лекарственные средства, устраняющие или ослабляющие состояние беспокойства, тревоги, страха.

**Снотворные средства** (*hypnotica*) — лекарственные средства (барбитамил, нитразепам и т.д.), применяемые в целях облегчения наступления сна и обеспечения его достаточной продолжительности.

**Психостимулирующие средства** (лат. *psycho- + stimulo* — возбуждать, побуждать) — лекарственные средства (фенамин, меридил, сиднокарб и т.д.), избирательно стимулирующие психическую деятельность, временно повышающие работоспособность, уменьшающие чувство усталости, устраняющие сонливость, улучшающие настроение.

**Галлюциногены** (психодислептические вещества — *psycho-dysleptica*) — вещества (диэтиламид лизергиновой кислоты, диметилтриптами, мескалин и т.д.), вызывающие у здоровых людей нарушения психики в форме зрительных и слуховых галлюцинаций или других нарушений восприятия.

Значительное число лиц, совершающих административные правонарушения и уголовные преступления, систематически употребляют наркотические средства или психотроп-





ные вещества. Это обусловлено неспособностью правильно оценивать свои действия в состоянии опьянения и необходимостью постоянно тратить большие суммы средств на приобретение наркотика.

В наркологических учреждениях исследования биологических сред производятся, как правило, только по направлению врача-психиатра-нарколога наркологического учреждения, имеющего в своем составе токсикологическую лабораторию.

В РФ создана и функционирует система органов судебно-медицинской экспертизы, имеющая большой практический и научный опыт обнаружения наркотических и психотропных веществ в биологических средах и тканях человека.

В ряде субъектов Российской Федерации (Санкт-Петербург, Липецкая область, Московская область, Новосибирская область, Читинская область, Алтайский край) все исследования биологических сред на предмет обнаружения наркотиков осуществляют только в химико-токсикологических лабораториях Бюро судебно-медицинской экспертизы.

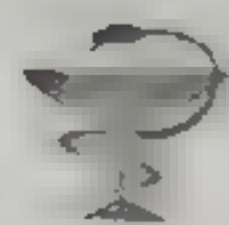
Главным учреждением, выполняющим функции высшей экспертной инстанции в области судебной медицины, является Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава Российской Федерации. Центр является ведущим организационно-методическим и научным учреждением (имеет государственную аккредитацию в качестве научной организации) и обладает правом на ведение образовательной деятельности в сфере профессионального образования.

## **V I. Семинар «Психоактивные вещества. Терминология. Химико-токсикологическая характеристика»**

*Вопросы для обсуждения на семинаре  
(карточки индивидуального задания)*

1. Дайте определения терминам: токсикомания, наркома-ния, наркотическое вещество, психотропное вещество, прекур-сор, психоактивное вещество.





2. Приведите классификацию психоактивных веществ.
3. Перечислите основные законодательные документы, регламентирующие оборот наркотических и психотропных веществ в РФ.
4. Ознакомьтесь с основными разделами Федерального закона «О наркотических средствах и психотропных веществах» (см. Приложение 17.1). Укажите названия списков в приложении данного Закона (см. Приложение 17.2).
5. Организация наркологической службы РФ.

### Задания для самостоятельной работы

1. Постройте блок-схему психоактивных веществ (наркотики, психотропные вещества, летучие яды, психодислептики и т.д.). При составлении блок-схемы используйте материалы лекций, методические указания, справочную литературу.

2. Из перечисленных ниже веществ выберите, какие из них входят в списки I, II, III и IV Федерального закона «О наркотических и психотропных веществах» (далее «Перечень»).

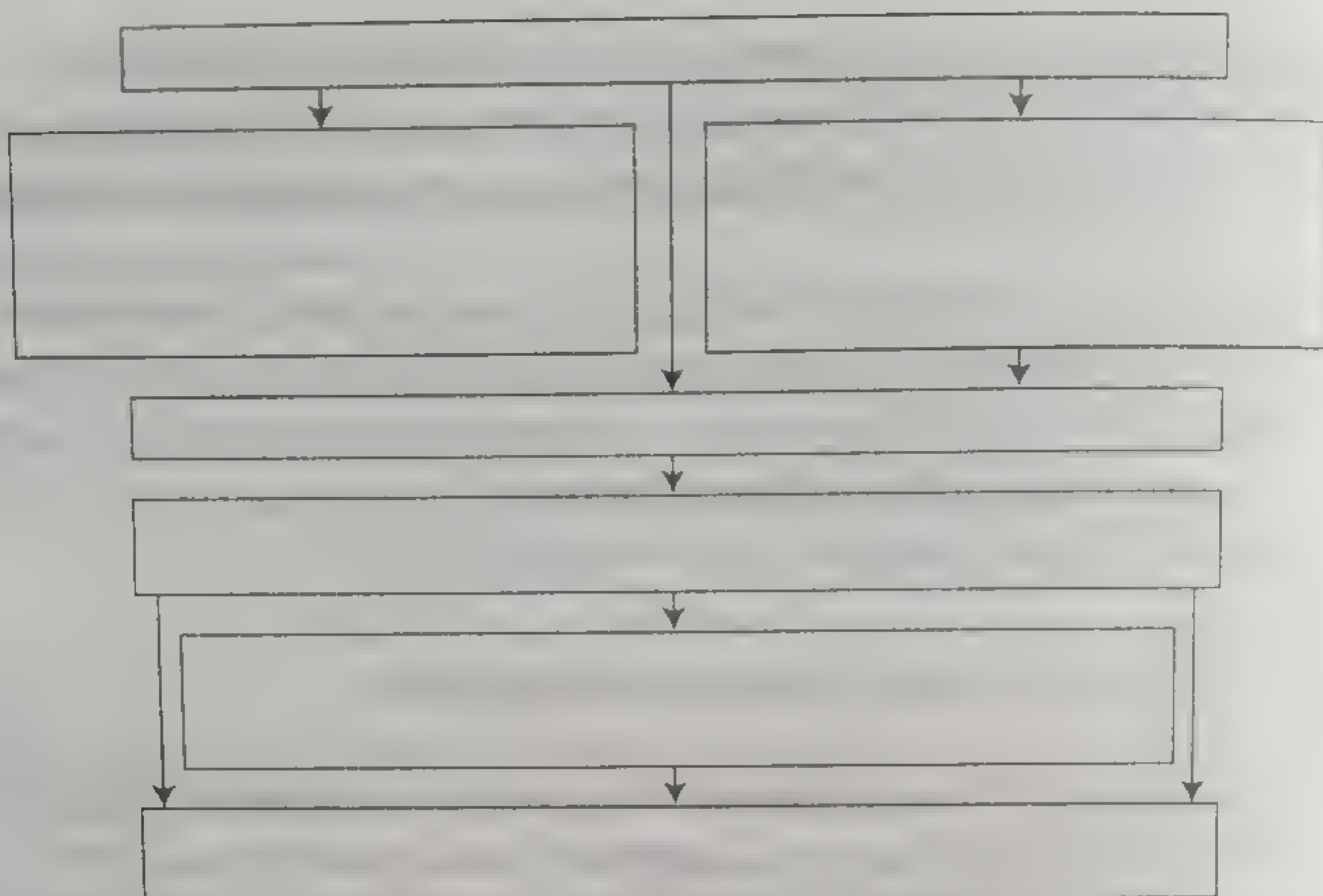
Заполните таблицу:

Список I	Список II	Список III	Список IV

галотан, кокаина гидрохлорид, норкодеин, красный фосфор, омнопон, тебаин, смола каннабиса, настойка опия, эфедрон, дексамфетамин, эггонин, эргометрин эфедрин, бензилморфин, марихуана, фенциклидин, эрготамин, фепранон, конопля, фентанил, метилэтилкетон, пентабарбитал, серная кислота, кетамин, морфилонг, толуол, натрия оксибутират, кокаин, героин, аспирин, никотин, папаверин, метадон, маковая соломка, бупренорфин, кодеина фосфат, 6-МAM, псевдоэфедрин, анаша, этаминал натрия, амфетамин, ацетон, апрофен, фторотан, мазиндол, метилэфедрин, перманганат калия, гепарин, кальцитонин, ЛСД, феназепам, просидол, бромизовал и т.д.

3. Охарактеризуйте структуру наркологической службы РФ, заполнив пустые блоки:





Выберите соответствующие службы из списка:

Центр наркологии

Центр аналитической диагностики наркотических средств  
и психотропных веществ

Региональные центры при крупных городах

Министерство здравоохранения и социального развития РФ

Химико-токсикологические отделения или лаборатории

Информационный центр

Судебно-химическое отделение

Наркологические диспансеры

Постоянный комитет по контролю качества наркотиче-  
ских средств и психотропных веществ

## V III. Итоговый тест

### Образец варианта итогового теста

1. Научная дисциплина, изучающая условия возникнове-  
ния и механизмы формирования токсических эффектов  
психоактивных веществ в целях диагностики, лечения и  
профилактики обусловленных ими заболеваний, — это:

а) психофармакология;

б) токсикологическая химия;



- с) наркология;
- d) социальная медицина;
- е) энзимология;
- f) медицинская психология.

*2. К психоактивным веществам относят:*

- a) кокаин;
- b) героин;
- с) аспирин;
- d) никотин;
- е) папаверин.

*3. К веществам, угнетающим ЦНС, относят:*

- a) опиаты;
- b) трициклические антидепрессанты;
- с) бензодиазепины;
- d) амфетамины;
- е) фенотиазины;
- f) этанол;
- g) барбитураты.

*4. К веществам-галлюциногенам относят:*

- a) ЛСД;
- b) барбитуровую кислоту;
- с) метадон;
- d) мескалин;
- е) диазепам;
- f) псилоцин.

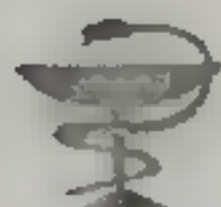
*5. В список I «Перечня» входят:*

- a) метадон;
- b) маковая соломка;
- с) бупренорфин;
- d) кодеина фосфат;
- е) 6-МAM.

*6. В список II «Перечня» входят:*

- a) эрготамин;
- b) бупренорфин;
- с) фепранон;





- d) конопля;
- e) фентанил.

7. В список III «Перечня» входят:

- a) конопля;
- b) героин;
- c) метилэтилкетон;
- d) этиламфетамин;
- e) пентабарбитал.

8. Список IV «Перечня» содержит следующие вещества:

- a) псевдоэфедрин;
- b) фентанил;
- c) серная кислота;
- d) кетамин.

9. Дополните следующие предложения:

1. Правовые основы государственной политики в сфере оборота НС устанавливает .....
2. Список I «Перечня» включает в себя список ..... , оборот которых в РФ .....
3. Список II «Перечня» включает в себя список ..... , оборот которых в РФ .....
4. Список III «Перечня» включает в себя список ..... , оборот которых в РФ .....
5. Список IV «Перечня» включает в себя список ..... , оборот которых в РФ .....

10. Дайте определения следующим понятиям:

- a) наркотические средства;
- b) незаконный оборот НС и ПВ;
- c) психотропные вещества;
- d) наркомания.

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 162–182.





3. Маркова И.В., Афанасьев В.В., Цыбульский Э.К. и др. Клиническая токсикология детей и подростков. В 2-х т. — СПб.: Интермедика, 1999. — Т. 1. — С. 123–280.

4. Брейтуйт Р.А., Браун С.С., Уиддон Б. и др. Основы аналитической токсикологии (каталог публикаций ВОЗ). — М.: Медицина, 1997. — С. 1–54.

5. Еремин С.К., Изотов Б.Н., Веселовская Н.В. Анализ наркотических средств: Руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств. — М.: Мысль, 1993. — 272 с.

6. Руденко Б.А., Коваленко А.Е., Галузин К.А. и др. Химико-аналитическое определение наркотиков и допинговых средств. — М.: Нарконет, 2007. — 368 с.



## ЗАНЯТИЕ

# 18

### ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ НАРКОТИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ, ПРОИЗВОДНЫМИ МОРФИНА. ОПИОИДЫ

#### *Структура занятия*

- I. Самостоятельная работа по карточкам индивидуального задания.
- II. Семинар «Опиаты и опиоиды. Особенности химико-токсикологического анализа».
- III. Итоговый тест.

#### *Целевые задачи*

- научиться прогнозировать возможные реакции биотрансформации (I и II фазы) опиатов: морфина, кодеина, героина — и опиоидов: метадона, фентанила;
- изучить особенности химико-токсикологического анализа при отравлениях наркотическими веществами — опиатами и опиоидами.

#### *Краткое теоретическое введение*

Количество злоупотреблений и смертельных отравлений наркотическими веществами группы опиатов (морфином, кодеином и их синтетическим аналогом — героином) в по-



следнее десятилетие возросло не только в Российской Федерации, но и во всем мире.

**Опий** — натуральный продукт, получающийся при надрезании головок мака. Млечный сок, вытекающий из надрезов, собирают и высушивают. При этом образуется **опийная смола**, или **опий-сырец**. Травя мака также используется для получения концентрированного экстракта и алкалоидов.

**Опий** — многокомпонентная смесь сахаров, белков, липидов, смол, восков, пигментов, воды, более 50 алкалоидов (10—20% общей массы) и других веществ. Относительные количества этих веществ зависят от условий произрастания, климата, сорта и возраста растений.

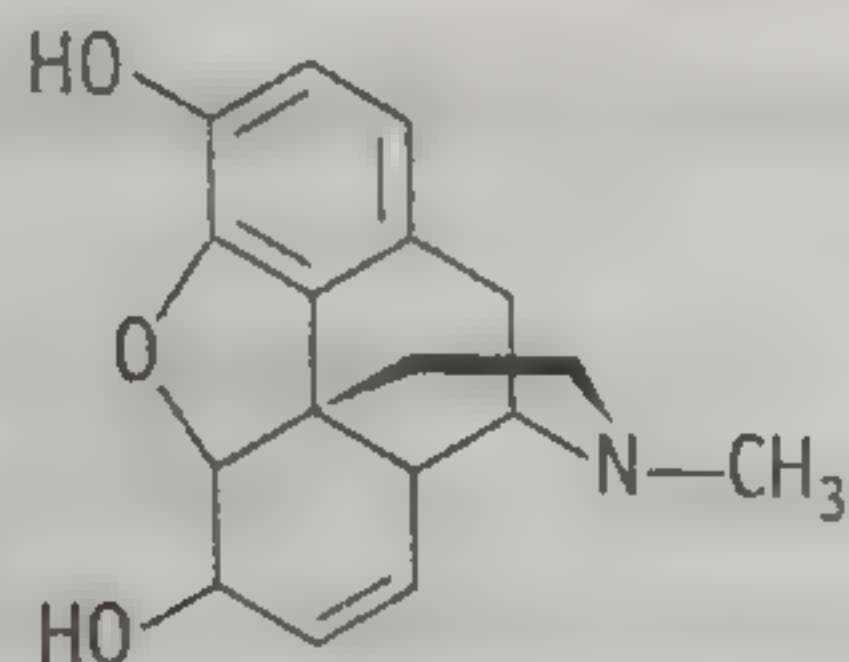
**Опиаты** — это вещества, близкие по химической структуре к морфину. **Опиоиды** — вещества, оказывающие морфиноподобное действие на человека (действуют на те же рецепторы), но обладающие иной химической структурой.

В соответствии с данной классификацией к опиатам относят наиболее распространенные в незаконном обороте наркотические средства: **морфин**, **кодеин**, а также их полусинтетические аналоги — **героин** (**диацетилморфин** — **ДАМ**) и его основной метаболит **6-моноацетилморфин** (**6-МAM**). Опиаты представляют собой производные фенантренизохинолина (морфинана) (рис. 18.1).

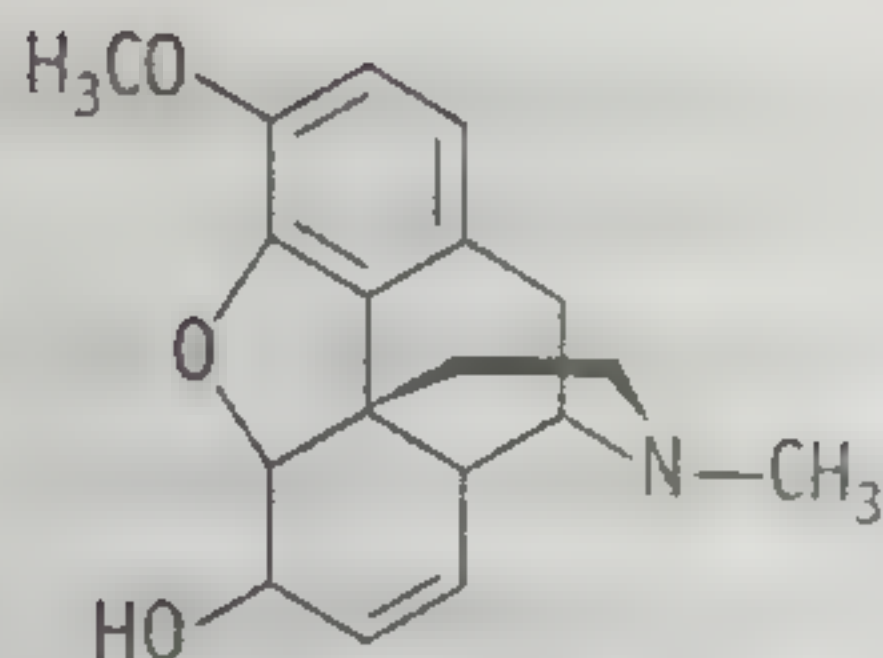
**Героин** (Smack, Junk, Horse, Stuff) — наиболее опасный «тяжелый» наркотик. Производится в подпольных лабораториях из морфина (или любого морфинсодержащего сырья: морфина-сырца, экстракционного опия, экстракта маковой соломки) по реакции ацетилирования. Чистый героин — белый порошок горького вкуса, может иметь различные формы: тонкий порошок, гранулы, порошок с небольшими сыпучими агрегатами. Героин, содержащий примеси, может отличаться по цвету (от белого до темно-коричневого) и агрегатному состоянию в зависимости от количества примесей, полученных в процессе производства, или в большинстве случаев присутствием пищевых красителей, какао или карамелизованного сахара.

При внутривенном введении морфина максимальный фармакологический эффект развивается через несколько минут, при подкожном и внутримышечном — через 15 мин.

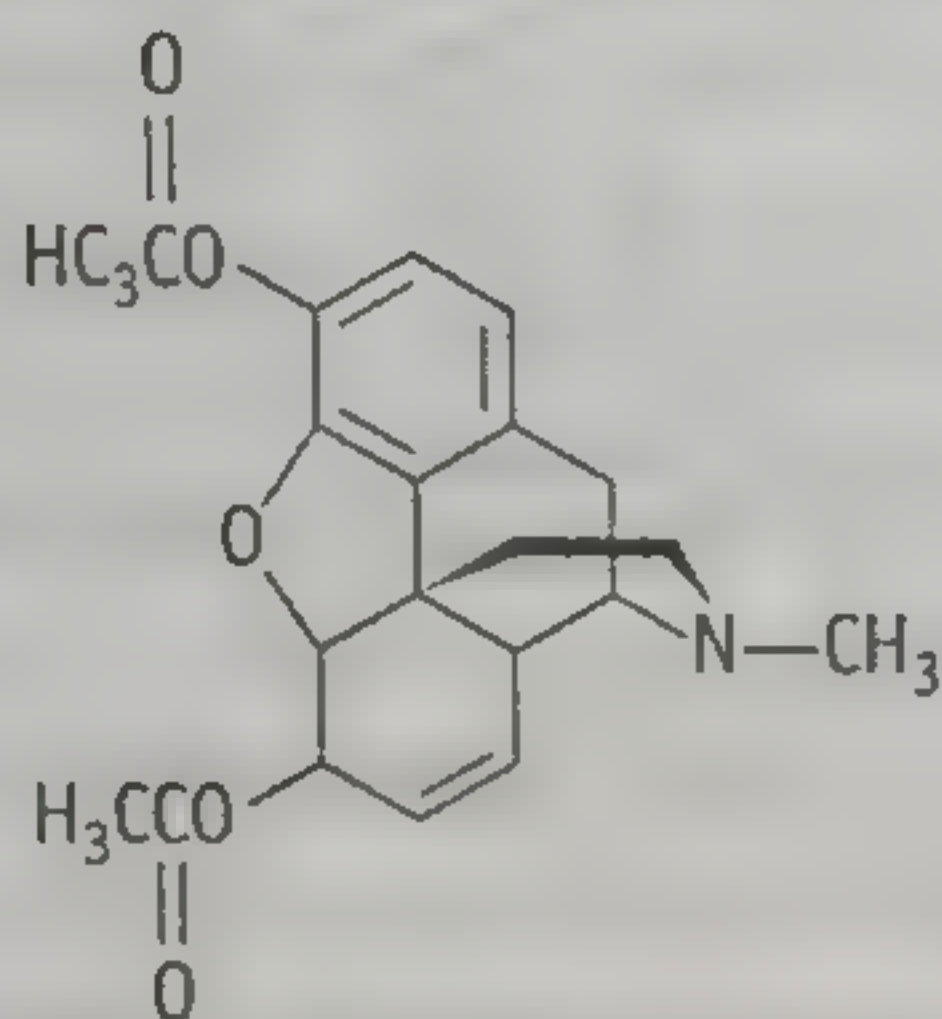




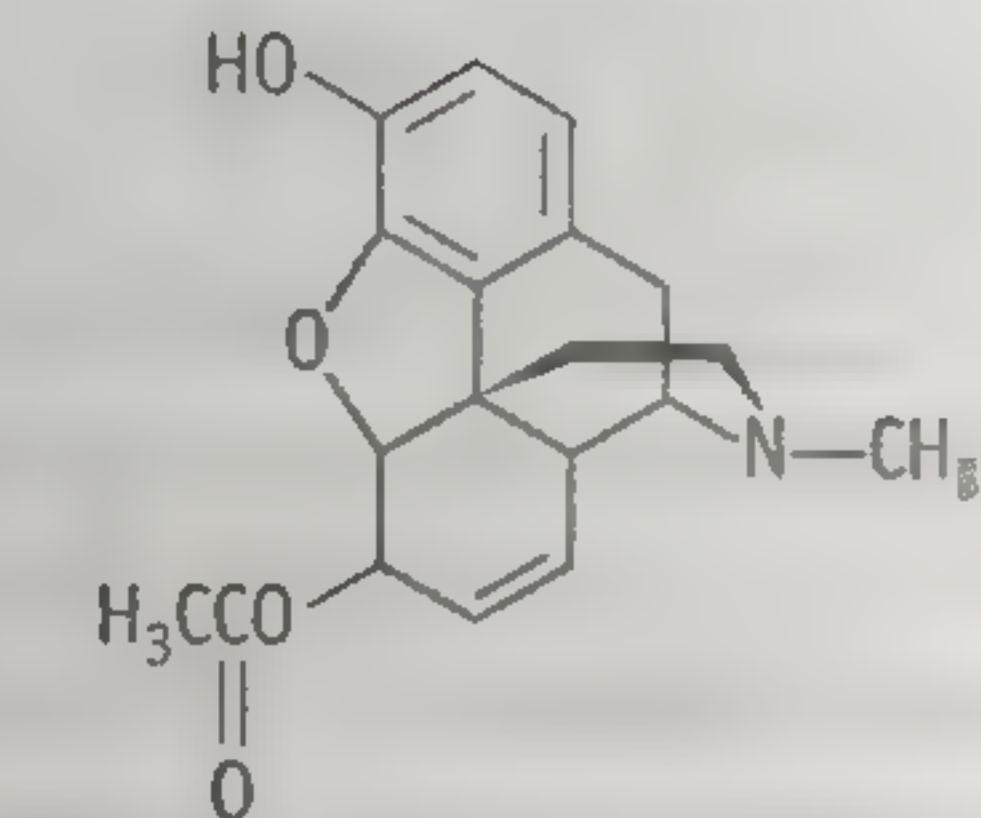
Морфин



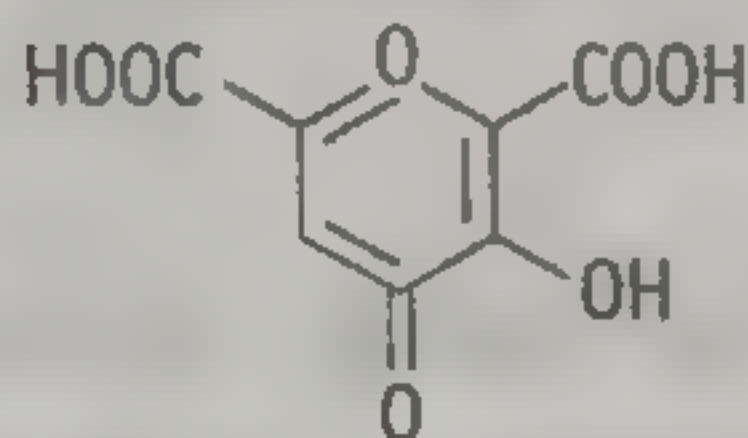
Кодеин



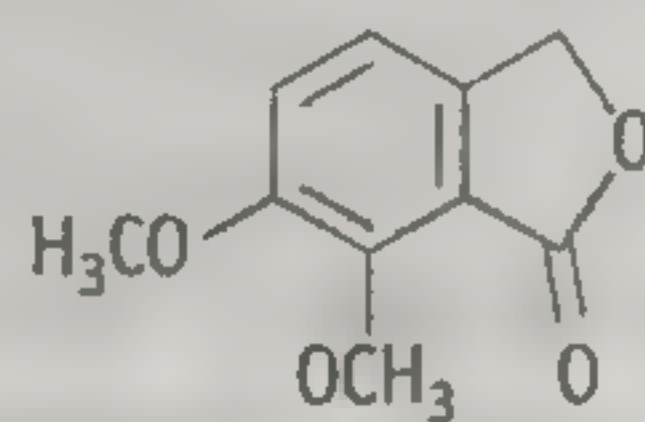
Диацетилморфин (Героин)



6-Моноацетилморфин (6-МAM)



Меконовая кислота



Меконин

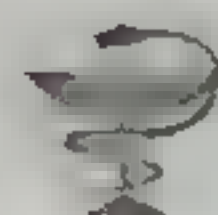
Рис. 18.1. Опиаты и компоненты опия-сырца

В дальнейшем содержание морфина в крови резко падает. Около 80% введенной дозы выделяется с мочой в течение 8 ч. Однако следы морфина можно обнаружить в моче спустя 72–100 ч. Время полувыведения морфина 2–3 ч.

При приеме внутрь за 24 ч с мочой выводится 64–90% препарата, но только менее 3% в неизмененном виде. Морфин образуется в ощутимых количествах при метаболизме опиатов: кодеина, героина и др.

Концентрация морфина в волосах связана с интенсивностью его употребления. Концентрации морфина в волосах ниже 0,3 нг/мг рассматриваются как незначимые; концентрации от 0,3 до 0,7 нг/мг могут быть связаны со злоупотреблением кодеином, но не позволяют утверждать о злоупотреблении морфином; концентрации до 1,5 нг/мг, вероятно, соответствуют злоупотреблению морфином или героином. При





содержании морфина в волосах свыше 1,5 нг/мг можно предполагать наркоманию.

Кодеин обладает значительно меньшей активностью по сравнению с морфином и его производным — героином. Он быстро всасывается после парентерального введения. Кодеин метаболизируется в печени в результате О- и N-деметиляции соответственно до морфина или норкодеина (рис. 18.2). Около 80% кодеина, принятого внутрь, выделяется с мочой в виде свободного кодеина (5–17%), конъюгатов кодеина с глюкуроновой и серной кислотами (32–64%), конъюгатов норкодеина (10–21%), конъюгатов морфина (5–13%).

В начальный период выведения кодеина в моче обнаруживаются в основном конъюгаты кодеина, спустя 20–40 ч их заменяют конъюгаты морфина.

Диацетилморфин (героин) подвергается быстрой биотрансформации в организме. Время обнаружения героина в крови живых лиц не превышает 3–7 мин после введения. При деацетилировании происходит образование 6-моноацетилморфина



Рис. 18.2. Биотрансформация опиатов





(6-МAM); морфина и его конъюгированных форм — морфин-6-глюкуронида (М-6-Г) и морфин-3-глюкуронида (М-3-Г).

При приеме морфина образуются М-6-Г и М-3-Г; при приеме кодеина — кодеин-6-глюкуронид (К-6-Г). Эти соединения являются основными при химико-токсикологических и судебно-химических исследованиях крови. До 80% введенной дозы героина выделяется с мочой в течение 24 ч в виде морфин-3-глюкуронида (50–60%), морфина (5–7%), 6-МAM (1%).

Для доказательства употребления героина необходимо идентифицировать его метаболит 6-МAM (другие опиаты его не образуют) (рис. 18.3). Следует также иметь в виду, что героин может содержать в качестве примеси ацетилкодеин иногда в больших количествах, который при метаболизме дает кодеин и морфин.

Таким образом, токсико-кинетические данные позволяют сделать следующие выводы. Присутствие в моче исключи-

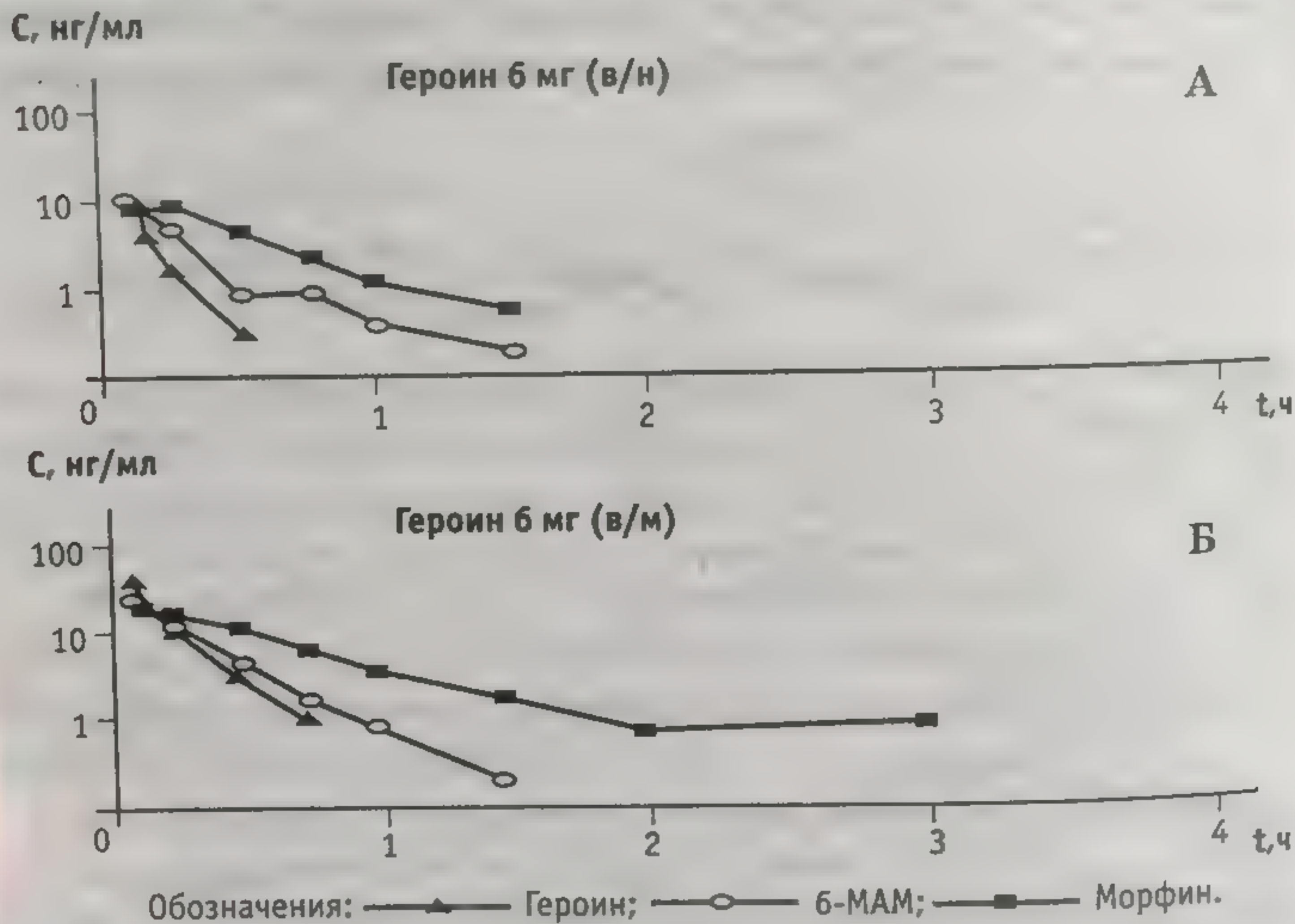


Рис. 18.3. Кинетика биотрансформации героина — контроль содержания в крови героина (1), 6-МAM (2), морфина (3) при введении героина гидрохлорида (6,0 мг) мышам интраназально (А) и внутримышечно (Б)



тельно морфина или его конъюгатов указывает на употребление чистого препарата морфина или на злоупотребление героином одним или двумя днями ранее. Присутствие в моче морфина и кодеина одновременно может свидетельствовать о медицинском использовании препаратов кодеина (в этом случае концентрация морфина ниже, чем кодеина). Употребление кодеина в терапевтических дозах (до 30 мг) дает возможность обнаруживать свободный морфин или кодеин только в течение нескольких часов после употребления, хотя другие метаболиты могут быть обнаружены спустя два-три дня после введения. При низких концентрациях в моче морфина и кодеина невозможно сделать строго однозначный вывод о веществе, который был употреблен (морфин, героин или кодеин).

### Методы определения

При химико-токсикологических анализах на опиаты и их метаболиты исследуют преимущественно плазму и/или сыворотку крови живых лиц (табл. 18.1). Концентрации опиатов в цельной крови выше, чем в сыворотке или плазме. Особое значение имеет методика изолирования и идентификации морфина и кодеина в трупной крови, в том числе гнилостно-измененной. При судебно-химических исследованиях анализируют, как правило, цельную кровь как наиболее представительный объект. Морфин, например, преимущественно накапливается в эритроцитах, глюкурониды морфина аккумулируются в плазме. В моче определяют героин (диацетилморфин) — преимущественно в виде его метаболита 6-моноацетилморфина, морфин (в том числе как метаболит героина) и кодеин (в том числе как примесь к «уличному» героину).

Таблица 18.1

Токсикологическая оценка содержания опиатов  
в плазме крови, мг/л

Доза	Морфин	Кодеин
Терапевтическая	0,08–0,12	0,01–0,25
Токсическая	0,15–0,50	0,3–0,5
Летальная	0,05–4,0	более 1,6





В таблице 18.2 приведены обобщенные данные по определению целевых метаболитов опиатов в крови людей, погибших от отравления героином (403 случая).

Таблица 18.2

## Летальные дозы опиатов для человека

Наркотическое вещество	Летальная доза для человека, мг
Морфин	200
Кодеин	800
Героин	60–200

Представленные данные получены при анализе методами хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Таблица 18.3

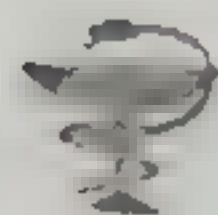
## Содержание опиатов и их метаболитов в крови при смертельных отравлениях героином

Опиаты	Диапазон концентраций, нг/мл
Морфин (метаболит) свободный	0–3300
Морфин (метаболит) общий	50–5400
6-моноацетилморфин (6-МAM)	0–83
Морфин-6-глюкуронид (М-6-Г)	316–2300
Морфин-3-глюкуронид (М-3-Г)	481–5800
Кодеин свободный (примесь к героину)	10–221

Как видно из таблицы 18.3, диапазон концентраций опиатов и целевых метаболитов при смертельных отравлениях героином достаточно велик. Это зависит от принятой дозы, времени между приемом наркотика и смертью, индивидуальных токсико-кинетических параметров (период полувыведения, объем распределения). Определяемые концентрации 6-МAM в моче составляют 5,6–2756 нг/мл.

Опиаты в крови и моче могут быть определены лишь в течение 3–5 дней после их приема. Ногти и волосы удержива-





ют опиаты и их метаболиты длительное время — месяцы и годы (табл. 18.4).

Таблица 18.4

### Содержание морфина в волосах человека

Наркотическое вещество	Диапазон концентраций, нг/мг	Среднее содержание, нг/мг	Число отрицательных образцов
Морфин	0,2–96,8	10,87	80 (64,5%)

Рассмотрим в качестве примера схему изолирования морфина и кодеина из 2,5 мл трупной крови (табл. 18.5).

Таблица 18.5

### Стадии изолирования опиатов из трупной крови

Стадия	Условия проведения
Кислотный гидролиз	Кровь : HCl = 1:1, 100 °C, 30 мин
Осаждение белков (депротеинизация)	50% -ный р-р трихлоруксусной кислоты, 1,1 мл, 10 мин
Отделение осадка белков	Центрифугирование (4000 об/мин, 10 мин); отделение супернатанта
Очистка кислого водного супернатанта от липидов экстракцией	Экстрагент — гексан, 10 мл, 3 мин
Отделение кислой водной фазы	Карбонатный буфер pH 9,4
Экстракция морфина, кодеина из водного извлечения	Экстрагент — хлороформ-н-бутанол, 9:1, 50 мл, взбалтывание 30 мин, pH водного извлечения 8,9–9,0
Центрифугирование экстракта	4000 об/мин, 10 мин

После отделения органической фазы экстракт доводят до определенного объема в мерной колбе. Далее аликвотные части экстракта исследуют на морфин и кодеин методом ГХ-МС.

Следует иметь в виду, что результаты судебно-химического исследования крови на опиаты во многом зависят от





условий отбора и хранения образцов. Необходимы возможно быстрое замораживание и ее хранение до анализа в замороженном состоянии при  $-20^{\circ}\text{C}$ . В процессе анализа исследуемые экстракты следует хранить в холодильнике при температуре не выше  $4^{\circ}\text{C}$ , а сухие остатки экстрактов — в морозильной камере.

Изучение сохраняемости опиатов в крови, например, при добавлении консервантов, в частности фторида натрия в кристаллическом виде из расчета 1% (масса), показало, что концентрация общего морфина в крови остается стабильной при комнатной температуре в течение 2 лет.

Современная аналитическая токсикология позволяет даже в 20 мг волос определять опиаты иммунохимическим (предел обнаружения 0,5 нг/мг) и хромато-масс-спектрометрическим (предел обнаружения 0,3 нг/мг) методами.

## V I. Самостоятельная работа по карточкам индивидуального задания

### Примеры вопросов для карточек индивидуального задания

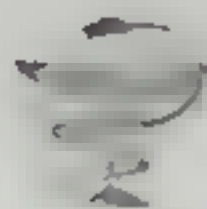
1. Сравните содержание морфина в плазме крови и волосах человека. Какая камера организма является депо для морфина?

2. По летальным дозам морфина, кодеина и героина расположите опиаты на гистограмме в порядке увеличения их токсичности.

3. Прогнозируйте химические механизмы взаимодействия морфина (героина, кодеина, 6-МAM) с ионами металлов. Запишите предполагаемые реакции.

4. Запишите реакцию I фазы биотрансформации морфина — окислительное деалкилирование. Как изменяются полярность ксенобиотика и вероятность его выведения из организма?





5. Запишите реакции глюкуронирования морфина (3 варианта). Какая это фаза биотрансформации? Как изменяются полярность ксенобиотика и вероятность его выведения из организма?

6. Запишите реакцию I фазы биотрансформации кодеина (гидролиз). Как изменяется при этом полярность ксенобиотика?

7. Запишите реакции глюкуронирования кодеина. Укажите фазу биотрансформации. Как изменяются полярность ксенобиотика и вероятность его выведения из организма?

8. Запишите реакцию I фазы биотрансформации кодеина (N-деметилирование). Как изменяется при этом полярность ксенобиотика?

9. Запишите реакцию конъюгации кодеина с серной кислотой. Укажите фазу биотрансформации. Как изменяются полярность ксенобиотика и вероятность его выведения из организма?

10. Напишите химическую реакцию I фазы биотрансформации героина. Как изменяется при этом полярность ксенобиотика?

11. Напишите химическую реакцию I фазы биотрансформации 6-МAM. Укажите фазу биотрансформации. Как изменяются полярность ксенобиотика и вероятность его выведения из организма?

12. Запишите реакции глюкуронирования 6-МAM. Укажите фазу биотрансформации. Как изменяются полярность ксенобиотика и вероятность его выведения из организма?

13. Напишите химическую реакцию I фазы биотрансформации мекодина. Как изменяется при этом полярность ксенобиотика?

14. Запишите реакции глюкуронирования компонента опия — меконовой кислоты. Изменяется ли при этом полярность молекулы?





15. Получите из метадона 6-диметиламино-4,4-дифенил-3-гептанол. Охарактеризуйте фазу биотрансформации.

16. Получите из метадона 6-метиламино-4,4-дифенил-3-гептанон. Охарактеризуйте фазу биотрансформации.

## V II. Семинар «Опиаты и опиоиды. Особенности химико-токсикологического анализа»

### Задания для обсуждения на семинаре

1. Постройте гистограмму, отражающую содержание наркотических веществ и их метаболитов в волосах 20 героинистов, нг/мг: героина — 0,17; морфина — 0,26; кодеина — 0,18; 6-МAM — 0,9. Укажите возможные причины обнаружения кодеина в крови наркоманов. Сделайте вывод, по какому веществу наиболее вероятно обнаружение отличия героинистов от больных, принимающих морфин или кодеин.

2. При употреблении терапевтических доз (до 30 мг) кодеина в течение нескольких часов после принятия в моче можно обнаружить не только свободный кодеин, но и морфин. Какая реакция биотрансформации подтверждает эти экспериментальные данные? Если концентрация морфина в моче ниже, чем кодеина, может ли это свидетельствовать о злоупотреблении морфином или героином? Ответ поясните.

3. Трем группам лабораторных животных в течение трех недель ежедневно вводили внутривенно по 5, 10 и 20 мг/кг кодеина. Установите графически характер зависимости между дозой и концентрацией опиатов в шерсти животных, если при анализе обнаружено: кодеина — 0,57; 0,80 и 1,95 нг/мг, а морфина — 1,08; 1,21 и 2,1 нг/мг (соответственно для 1, 2 и 3 групп). Почему содержание морфина оказалось выше, чем введенного кодеина?

4. Сравните методики определения опиатов в моче и нетрадиционных биоматериалах по следующей схеме:





Стадия анализа	Сравнительная характеристика биоматериалов		
	общие подходы	различия	преимущества
Пробоподготовка			
Предварительные испытания			
Подтверждающий анализ			

Охарактеризуйте селективность и предел обнаружения опиатов в каждом методе анализа. При подготовке ответа используйте информацию по методикам определения.

#### *Методика определения опиатов в трупной моче и моче живых лиц*

Методики идентификации в моче морфина, кодеина, героина и его знакового метаболита 6-моноацетилморфина базируются на двух методах анализа — тонкослойной хроматографии (ТСХ) и ГХ-МС.

*Изолирование опиатов из мочи проводят в двух вариантах:*

А — путем прямой экстракции 10 мл пробы мочи при рН 9,4 (карбонатный буфер) в 50 мл смеси хлороформ — н-бутанол (9:1). При этом из пробы экстрагируются морфин, кодеин, героин и 6-моноацетилморфин.

Б — путем экстракции смесью хлороформ — н-бутанол (9:1) после предварительного гидролиза 10 мл пробы мочи на кипящей водяной бане в течение 30 мин при добавлении 2 мл концентрированной HCl. При этом из пробы экстрагируется продукт кислотного гидролиза — общий морфин или общий кодеин.

В таблице 18.6 приведены примеры реакций обнаружения опиатов методом ТСХ.

Пределы обнаружения опиатов в моче с использованием всего комплекса реактивов методом ТСХ составляют (мкг/мл мочи): для морфина — 1–5; для кодеина и героина — 1–2.





**Методика определения опиатов и других наркотических и психотропных веществ в слюне, потожировых выделениях человека на поверхности кожи, волосах и ногтях**

**Подготовка образцов к анализу.** Представленные на анализ биоматериалы настаивают с этанолом или метанолом в течение 4 ч при комнатной температуре. Затем спиртовые вытяжки фильтруют и упаривают досуха на роторном испарителе при +40 °С. Сухой остаток растворяют в небольшом объеме спирта (50–200 мкл). В качестве контроля используют полученные от лабораторного персонала пробы, обработанные тем же способом.

Таблица 18.6

Примеры реакций обнаружения опиатов после разделения их методом ТСХ на пластинках «Сорбфил» (состав хроматографических систем: толуол — ацетон — этанол-25%-ный  $\text{NH}_3$  (45 : 45 : 7 : 3); этилацетат — этанол-25%-ный  $\text{NH}_3$  (90 : 30 : 10))

Исследуемый опиат	Реактив Драгендорфа*	Йодплатинатный реактив**	1%-ные растворы $\text{CuSO}_4$ и $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ***, 1:1	Реактив Марки-Манделина****
Героин	от оранжевого до коричневого (0,2) <sup>5*</sup>	темно-фиолетовое (0,2)	розово-брусничное (0,2)	темно-фиолетовое (0,2)
6-МAM	оранжево-коричневое (0,2)	фиолетовое (0,2)	розово-брусничное (0,2)	синее (0,3)
Кодеин	—	сине-пурпурное (0,2)	розово-брусничное (0,2)	темно-синее (0,3)
Морфин	—	сине-фиолетовое (0,2)	розово-брусничное (0,2)	фиолетовое (0,25–0,3)

\* Реактив Драгендорфа ( $\text{K}[\text{BiI}_4]$ ): раствор основного нитрата висмута ( $\text{BiO}(\text{NO}_3)$ ) и йодида калия ( $\text{KI}$ ) в разбавленной уксусной кислоте.

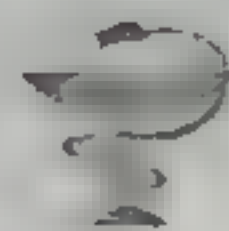
\*\* Йодплатинатный реактив: раствор хлорида платины ( $\text{PtCl}_4$ ) и йодида калия ( $\text{KI}$ ) в разбавленной соляной кислоте ( $\text{HCl}$ ).

\*\*\* Феррицианид — медный реактив: смешивают равные объемы 1%-ных р-ров  $\text{CuSO}_4$  и  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ .

\*\*\*\* Реактив Марки: раствор формальдегида в серной кислоте. При добавлении в серную кислоту ванадата аммония  $((\text{NH}_4)_2\text{VO}_4)$  получают реактив Марки-Манделина.

<sup>5\*</sup> В скобках указаны пределы обнаружения опиатов, мкг.





Для отличия наркомана от распространителя или изготовителя наркотика следует удалить внешние загрязнения на биообъекте (волосы, ногти) предварительным отмыванием 2 моль/л кислотой и спиртом (до исчезновения в спирте следов наркотического вещества).

*Предварительные испытания.* Наносят по 5 мкл спиртовых вытяжек одновременно со стандартными растворами определяемых веществ (100 мкг/мл) на хроматографические пластинки (например, пластинки для высокоэффективной ТСХ с кизельгелем 60 254, «Мерк», Германия). Для хроматографирования используют следующие системы растворителей:

— метанол — концентрированный раствор аммиака 100:1,5;

— циклогексан — толуол — диэтиламин 75:15:10.

После удаления растворителя пластинки просматривают в УФ-свете при 254 и 336 нм. Используемые для проявления реактивы: реактив Марки, реактив Драгендорфа, раствор йодоплатината.

*Подтверждающие испытания.* При обнаружении хроматографических зон, совпадающих по  $R_f$ , поглощению в УФ-свете и по окрашиванию со стандартами, проводят испытания методом ГХ/МС. Предел обнаружения 0,5 нг/мг.

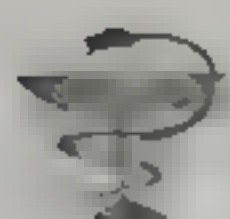
## V III. Итоговый тест

### Примерные вопросы итогового теста

1. *Натуральный продукт, получающийся при надрезании головок мака, называется:*

- а) марихуана;
- б) опий;
- в) гашиш;
- г) анаша;
- д) кокаин.





2. Многокомпонентная смесь сахаров, белков, липидов, смол, восков, пигментов, воды, более 50 алкалоидов (10–20% общей массы) и других веществ — это:

- a) опий;
- b) опиум;
- c) опиоид.

3. К опиатам относятся:

- a) морфин;
- b) фенциклидин;
- c) кодеин;
- d) меконин;
- e) метадон.

4. В качестве экспресс-теста для диагностики острого наркотического опьянения можно использовать:

- a) ГЖХ;
- b) ААА;
- c) ТСХ;
- d) хромато-масс-спектрометрию;
- e) ВЭЖХ;
- f) ИФА.

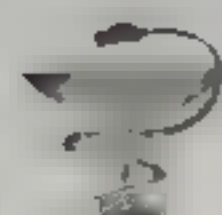
5. Укажите метаболит, который необходимо идентифицировать для доказательства употребления героина:

- a) меконовая кислота;
- b) 6-МAM;
- c) M-3-Г;
- d) M-6-Г.

6. Признаки острого отравления морфином:

- a) мидриаз;
- b) миоз;
- c) гипертензия;
- d) гипотензия;
- e) судороги.





7. Вещество, имеющее морфиноподобное действие на человека (действует на те же рецепторы), но обладающее иной химической структурой, — это:

- а) опиоид;
- б) опиат;
- с) опий.

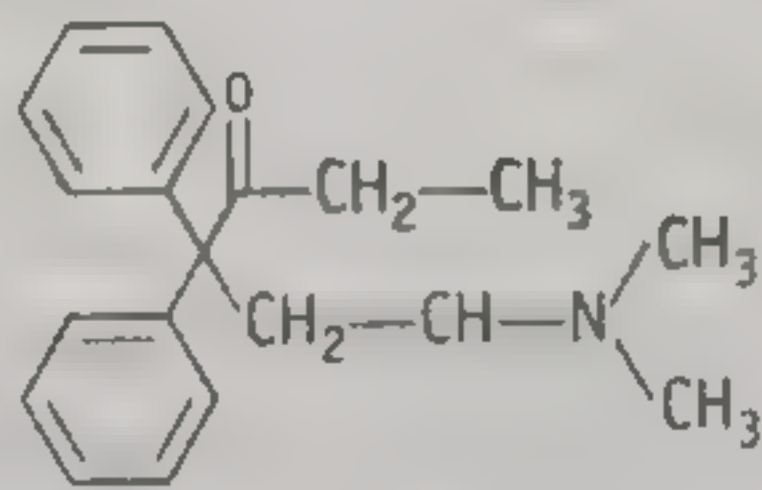
8. При химико-токсикологических анализах на опиаты и их метаболиты у живых лиц преимущественно исследуют:

- а) содержимое желудка;
- б) сыворотку крови;
- с) мочу;
- д) плазму крови;
- е) содержимое кишечника;
- ф) слюну.

9. Основными метаболитами морфина *in vivo* являются:

- а) кодеин;
- б) героин;
- с) N-глюкурониды;
- д) O-глюкурониды;
- е) норморфин;
- ф) 3'-оксопроизводные.

10. Данное вещество



является:

- а) опиатом;
- б) опиоидом;
- с) каннабиноидом;
- д) наркотическим анальгетиком;
- е) галлюциногеном.

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 268–275.



## ЗАНЯТИЕ

# 19

### ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ НАРКОТИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ, ПРОИЗВОДНЫМИ КАННАБИНОИДОВ. КОКАИН

#### *Структура занятия*

- I. Семинар «Каннабиноиды, кокаин. Определения, происхождение, химические формулы. Особенности химико-токсикологического анализа».
- II. Итоговый тест.

#### *Целевые задачи*

- научиться прогнозировать возможные реакции биотрансформации (I и II фазы) каннабиноидов и кокаина;
- изучить особенности химико-токсикологического анализа при отравлениях наркотическими веществами.

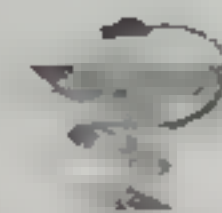
#### *Краткое теоретическое введение*

##### **Общая характеристика**

В группу каннабиноидов входят препараты различных частей конопли (*Cannabis sativa*).

Наиболее распространенные формы нелегальных наркотических средств группы каннабиноидов — марихуана, анаша, гашиш, гашишное масло, различающиеся количественным и качественным составом алкалоидов и степенью очистки.





*Марихуана* — высушенная и измельченная верхняя часть растения с листьями и цветками, где содержание активных веществ наиболее высоко (13–15%).

*Гашиш* — смола, выделяемая каннабисом в определенный период вегетации, зеленого, темно-коричневого или черного цвета. Содержание основного психоактивного вещества — тетрагидроканнабиола (ТГК) — около 2%, но может достигать 9–10%.

*Гашишное масло* — концентрированный темный жидкий и вязкий экстракт растительного материала или смолы каннабиса с содержанием психоактивных веществ от 10 до 60%.

Биологическая активность этих средств длительно сохраняется при хранении в этаноле или в кунжутном масле, но при хранении на свету или при доступе кислорода со временем уменьшается из-за деградации основного активного компонента.

В настоящее время каннабис, его препараты и все изомеры ТГК входят в Список № 1 Конвенции ООН и соответствующий ему Список № 1 Постоянного комитета по наркотикам РФ, что означает запрет на использование в любых, в том числе и в медицинских, целях.

Активными ингредиентами марихуаны (каннабиса) являются каннабиноиды: каннабинол (КБ), каннабидиол (КБД),  $\Delta^9$ - и  $\Delta^8$ -тетрагидроканнабинолы ( $\Delta^9$ - и  $\Delta^8$ -ТГК), а также соответствующие им кислоты. В марихуане содержится 0,5–5%  $\Delta^9$ -ТГК, в гашише — 2–10%, в гашишном масле — 10–30%  $\Delta^9$ -ТГК.

Некоторые из них приведены на рисунке 19.1.

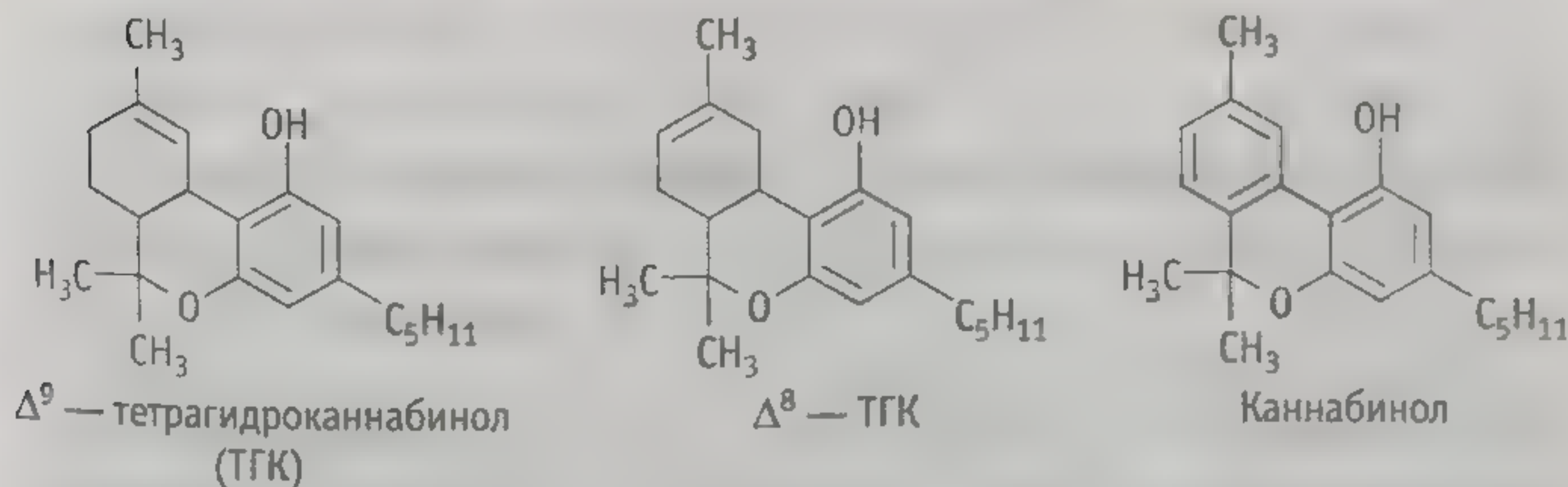


Рис. 19.1. Примеры активных ингредиентов марихуаны (каннабиса) — каннабиноидов





Каннабиноиды воздействуют на нейромедиаторы головного мозга, в частности на ацетилхолин.

При курении каннабиноиды всасываются в течение нескольких минут. Содержание каннабинола и  $\Delta^9$ -ТГК в крови становится максимальным через 5–30 мин. Их концентрация в крови быстро снижается вследствие активного метаболизма и распределения по тканям (депонирование в печени и других тканях).

При приеме внутрь всасывание каннабиноидов замедлено: содержание в крови достигает максимальных значений через 1,5–3 ч. Это связано с попаданием вещества в систему воротной вены, в печень, а затем уже в мозг.

Механизмы распределения и связывания каннабиноидов существенно отличаются от таковых наркотических веществ других химических классов. В первую очередь необходимо отметить высокую липофильность каннабиноидов и их метаболитов. Много каннабиноидов и продуктов их метаболизма в ткани мозга, легких, печени, почках.

Каннабиноиды метаболизируются в основном в печени. Основным неактивным метаболитом ТГК в моче является 11-норкарбокси- $\Delta^9$ -ТТК ( $\Delta^9$ -ТГК — кислота) (рис. 19.2) и ее конъюгат с глюкуроновой кислотой. Некоторые метаболиты ТГК активны, а 11-гидрокси- $\Delta^9$ -ТГК даже превосходит ТГК по своей фармакологической активности. Значительной активностью обладает также 8-гидрокси- $\Delta^9$ -ТГК.

#### Методы определения каннабиноидов

Определение каннабиноидов представляет собой непростую задачу из-за их высокой растворимости в липидах и низкого содержания в крови и моче. Иногда доказать употребление наркотика легче путем его обнаружения в смывах рук, ногтей и полости рта. Для этого из спиртовых смывов рук и полости рта каннабиноиды экстрагируют этилацетатом, гексаном или петролейным эфиром. Экстракт после упаривания используют для цветных экспресс-реакций и в ТСХ. Проводят двукратное хроматографирование в системе петролейный эфир — диэтиловый эфир (4:1). Пластины оп-



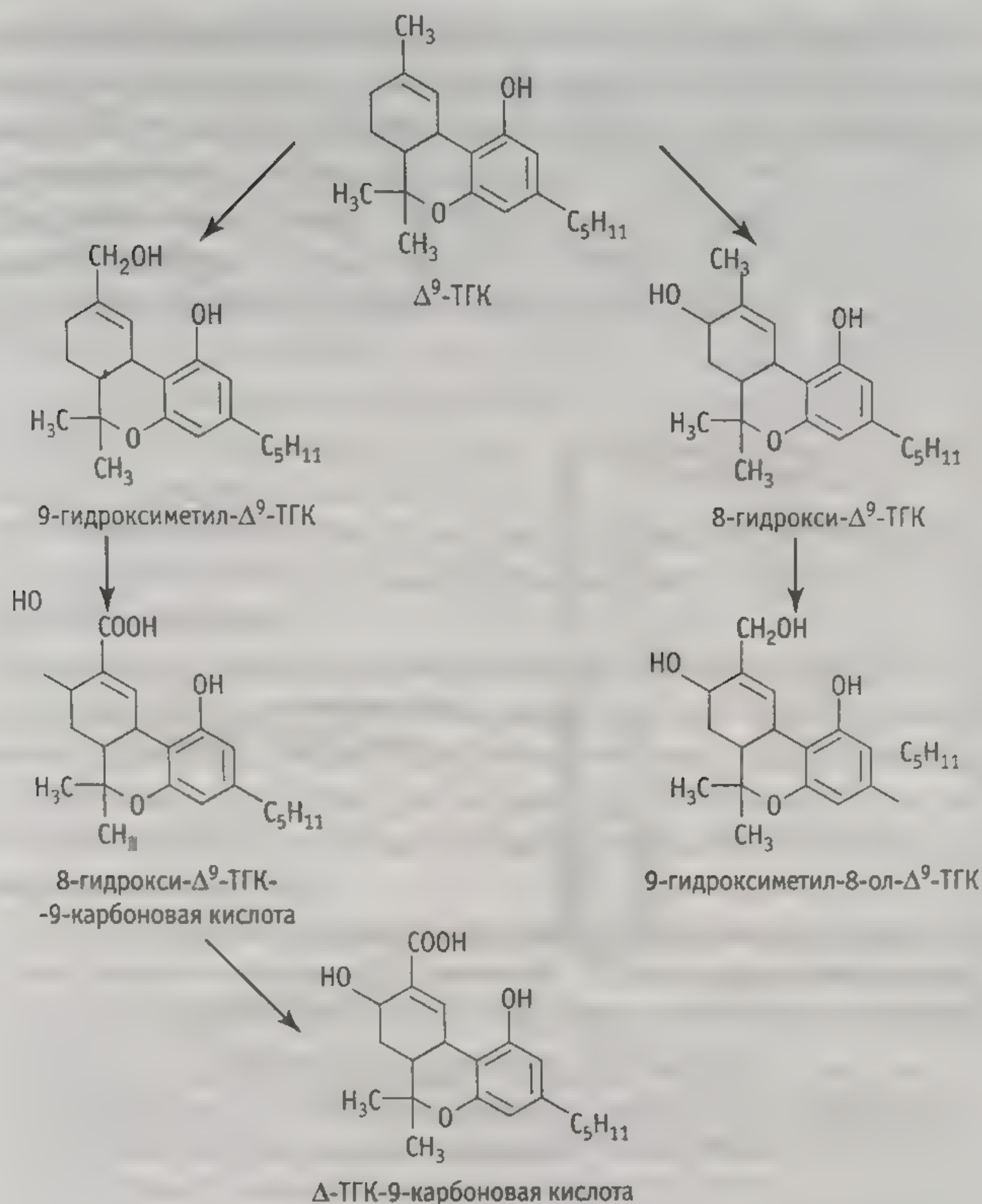
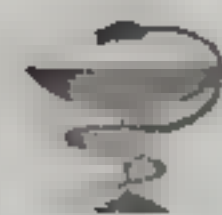


Рис. 19.2. Пути метаболизма тетрагидроканнабинола

рыскивают 0,5%-ным р-ром прочного синего Б или ББ в 10%-ном р-ре натрия карбоната. Значение  $R_f$  каннабинола — 0,76,  $\Delta^9$ -ТГК — 0,84.

Цветной тест проводят с аликвотой спиртового смыва, к которой добавляют смесь соли прочного синего Б с сульфитом натрия, несколько капель хлороформа и 0,1 моль/л р-ра NaOH. В присутствии каннабиноидов образуется пурпурно-красное окрашивание.





Для обнаружения каннабиноидов ( $\Delta^9$ -ТГК и его метаболитов) в биожидкостях применяют простые и чувствительные иммунохимические методы. Предел обнаружения около 20 нг/мл.

Обнаружение каннабиноидов в волосах с использованием иммунных методов затруднительно из-за их низкого содержания. При определении каннабиноидов предпочтительна хромато-масс-спектрометрия в различных ее модификациях (рис. 19.3).

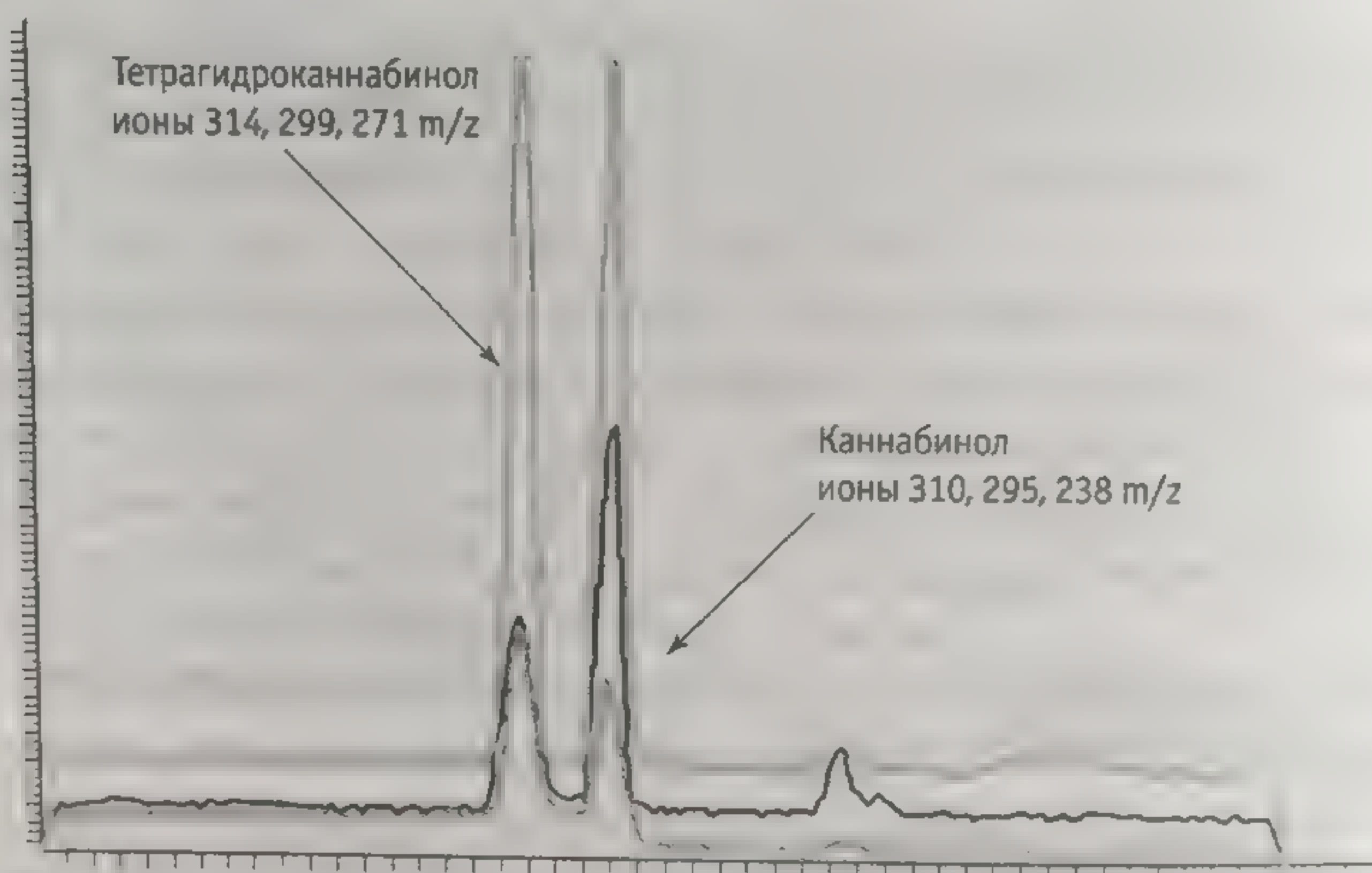
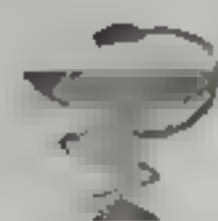


Рис. 19.3. Хроматограммы характеристических ионов тетрагидроканнабинола и каннабинолов, выделенных из волос курильщика марихуаны

При подготовке пробы мочи к анализу методами ГЖХ и ГХ-МС необходимо провести щелочной гидролиз конъюгатов  $\Delta^9$ -ТГК-кислоты. Образующуюся после гидролиза  $\Delta^9$ -ТГК-кислоту экстрагируют и после упаривания растворителя переводят в метиловый эфир. Характерными масс-фрагментами для метилового эфира  $\Delta^9$ -ТГК-кислоты являются ( $m/z$  — масса/заряд) 372, 357, 313.

Анализ плазмы крови проводят по той же схеме, но без предварительного гидролиза. Характерные масс-фрагменты для  $\Delta^9$ -ТГК ( $m/z$ ) — 314, 299, а для метилового эфира —  $\Delta^9$ -ТГК 328, 313.





### Химико-токсикологическая характеристика кокаина

Кокаин — алкалоид, выделяемый из листьев (содержание ~1%) кустарника коки (*Erythroxylon coca*), культивируемого в высокогорных районах.

В настоящее время кокаин включен в Список № 2 Конвенции ООН по наркотикам и в соответствующий Список № 2 Постоянного комитета по контролю за наркотиками РФ. Это означает возможность легального использования кокаина по определенным медицинским показаниям при международном и внутреннем контроле за производством, употреблением и распространением.

Кокаин, поступающий из производящей страны, обычно содержит 80–90% кокаина-гидрохлорида и редко содержит примеси и добавки.

Для нелегальной продажи в кокаин добавляют до 12–75% неконтролируемых синтетических местных анестетиков (лидокаин, прокаин, бензокаин) или углеводы (маннитол, лактозу, глюкозу, крахмал), а также борную кислоту или соду. Внешний вид нелегальных образцов кокаина при этом практически не меняется.

Скорость привыкания к кокаину зависит от способа его потребления и используемых доз. При интраназальном введении зависимость возникает постепенно, а при курении и внутривенном введении развивается быстро.

Кокаин сильно стимулирует ЦНС, способен изменять сознание, снимать усталость, подвергается активному метаболизму. Биотрансформация кокаина представлена на рис. 19.4. Синтетический кокаин получают из эгонины.

Распределение кокаина и его метаболитов имеет специфические особенности. Кокаин и норкокаин — липофильные соединения, легко преодолевают гематоэнцефалический и плацентарный барьеры. В высоких концентрациях кокаин накапливается в жировых депо. Метаболиты кокаина — бензоилэгонин и эгонин (рис. 19.4), высокополярные соединения, не способны преодолеть гематоэнцефалический барьер, по крайней мере, в фармакологически значимых концентрациях.

Подкожная жировая клетчатка и ороговевшие частички кожи людей (верхний слой эпидермиса), в течение 40 нед. употреблявших кокаин, также содержат небольшие количе-



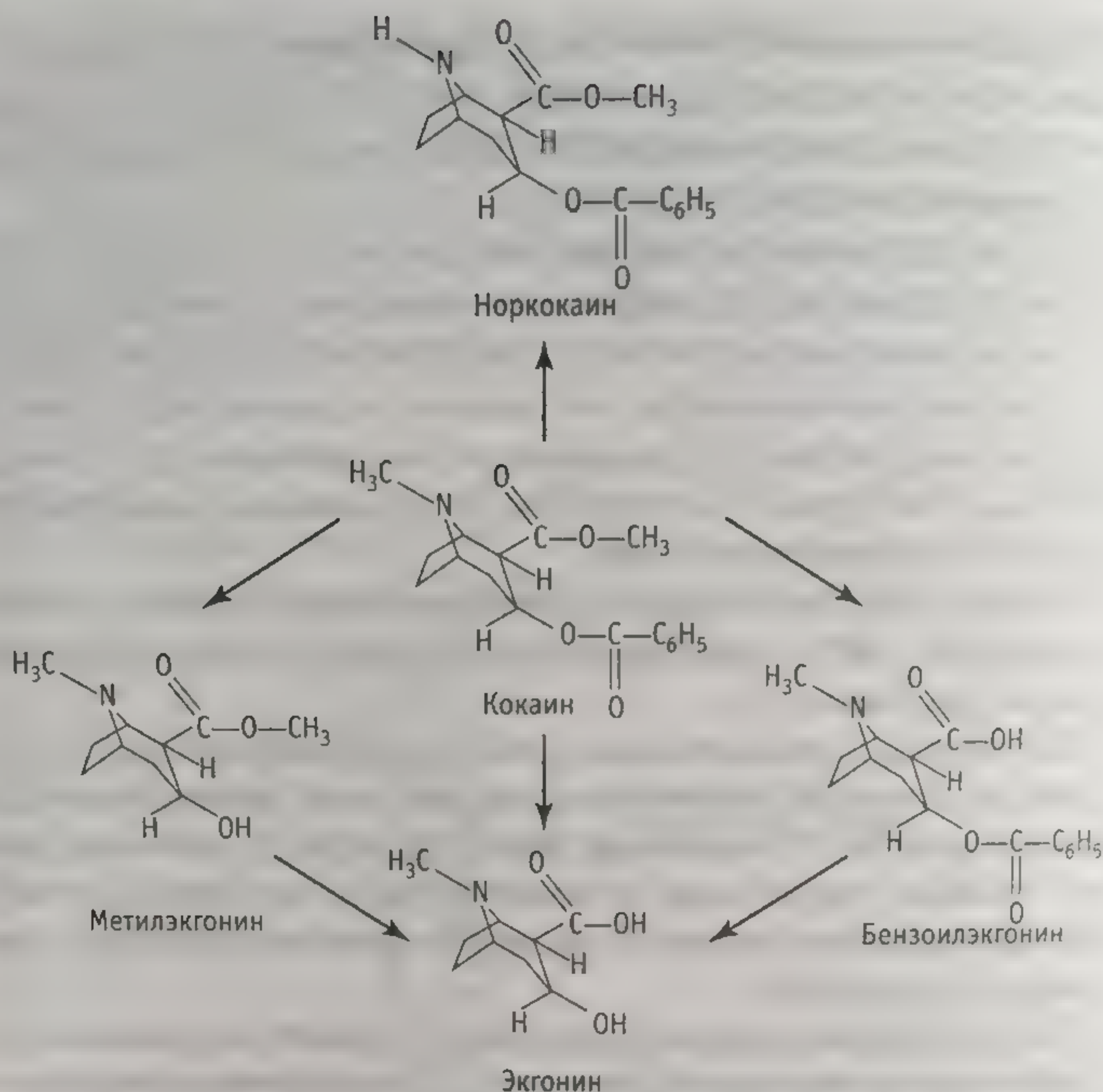


Рис. 19.4. Биотрансформация кокаина

ства наркотика. Кокаин и его метаболиты накапливаются в волосах. Содержание кокаина в волосах наркоманов колеблется от 0,037 до 129,68 нг/мг.

Метилэгонин не накапливается в крови, а непрерывно выводится с мочой, где его можно обнаружить.

Бензоилэгонин образуется из кокаина в процессе химического гидролиза при физиологических значениях pH 7,4, устойчив к гидролизу в интервале pH 5,0–8,0. Метилэгонин превращается в эгонин по этому же механизму. При подщелачивании гидролиз метилэгонина в эгонин может проходить и в моче. Содержание эгонина в моче часто может превышать содержание бензоилэгонина.

Поскольку эгонин является конечным продуктом химического гидролиза кокаина, метилэгонина и бензоилэго-





нина *in vivo* и *in vitro*, его можно использовать как маркер при отравлениях кокаином.

При совместном употреблении кокаина и этанола образуется активный токсичный продукт кокаэтилен. Полупериод его образования  $t_s = 148$  мин. Концентрация кокаэтилена иногда превышает концентрацию кокаина в крови, печени, мозге, моче. Кокаэтилен может образоваться также при длительном хранении кокаина в спиртовом растворе, а также долго сохраняется в печени трупа.

### Методы определения кокаина

Для обнаружения наркотиков можно исследовать слюну. После внутривенного введения 44,8 мг кокаина максимум концентрации в слюне колеблется в интервале 428–1927 нг/мл. После курения эти значения выше: 15 852–50 4880 нг/мл.

Предел обнаружения кокаина в плазме составляет: 50–300 нг/мл при использовании кокаина в лечебных целях (терапевтическая концентрация); 200–900 нг/мл при отравлениях (токсическая концентрация); 1–20 мкг/мл при летальных исходах.

Употребление кокаина можно установить при исследовании волос.

В результате пиролиза кокаина-основания при курении образуется летучий продукт *ангидрозггонин-метилловый эфир* (АЭМЭ), который может служить маркером курения крэка (кокаина-основания). Содержание АЭМЭ в слюне достигает 558–4374 нг/мл через 2 мин после курения.

## V I. Семинар «Каннабиноиды, кокаин. Определения, происхождение, химические формулы. Особенности химико-токсикологического анализа»

### Вопросы для работы на семинаре

1. Опишите образование норкокаина с точки зрения теории биотрансформации (фаза, тип химической реакции, условия протекания).





2. Каков результат комбинированного воздействия кокаина и этанола на организм человека?

3. Пиролиз кокаина гидрохлорида происходит с образованием изомеров карбометоксициклогептатриена. Запишите соответствующие реакции.

4. Запишите реакцию гидролиза кокаина до бензоилэксгонина. Укажите условия (катализатор, pH, температура) ее протекания в организме человека.

### Самостоятельная работа по карточкам индивидуального задания

1. При определении содержания кокаина и его метаболита бензоилэксгонина в плазме крови после внутривенного введения 45 мг кокаина гидрохлорида (при курении) были получены следующие результаты (табл. 19.1).

Таблица 19.1

Содержание кокаина (нг/мл) и его метаболитов в плазме после курения или внутривенного введения

Время, мин	Курение		Внутривенное введение	
	кокаин	бензоилэксгонин	кокаин	бензоилэксгонин
2	153	0	244	14
5	120	< 1	217	7
10	103	11	234	16
15	91	21	222	36
30	69	49	173	80
60	39	65	124	128
120	23	70	66	155
240	6	58	20	135
480	0	24	2	109
720	0	13	< 1	59
1440	0	< 1	0	11

2. После интраназального введения 100 мг кокаина-гидрохлорида содержание кокаина и его метаболита бензоилэксгонина в моче было следующим (табл. 19.2).



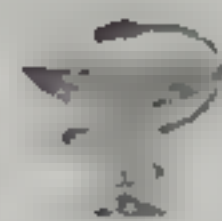


Таблица 19.2

Изменение содержания кокаина (мкг/мл) и бензоилэксгониона в моче (интраназальное и внутривенное введение 100 мг кокаина-гидрохлорида)

Время, ч	Кокаин	Бензоилэксгонин
0,5	9,60	19,10
1	9,30	43,50
3	4,00	52,50
4	6,60	32,00
5	2,40	34,40
6	0,70	39,80
10	0,48	35,20
12	0,20	20,50
18	—	14,80
20	—	18,50
36	—	2,20
60	—	0,45

Постройте графики  $c = f(t)$  и  $\ln C = f(C)$ . Определите кинетический порядок процессов выведения кокаина из крови и накопления бензоилэксгониона. В случае получения константы скорости первого порядка для процесса биотрансформации рассчитайте период полувыведения и полунакопления ксенобиотиков. Почему накопление бензоилэксгониона происходит через максимум? Ответ сопроводите уравнением соответствующей реакции.

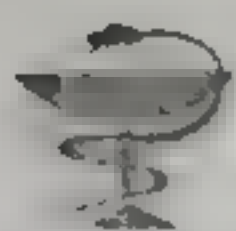
## V II. Итоговый тест

### Образец варианта итогового теста

1. Смола, производимая каннабисом в определенный период вегетации, зеленого, темно-коричневого или черного цвета носит название:

- а) гашиш;
- б) опий;





- c) марихуана;
- d) анаша;
- e) кокаин.

2. Обнаружение каннабиноидов в волосах проводят:

- a) ВЭЖХ;
- b) методом хромато-масс-спектрометрии;
- c) ГЖХ;
- d) иммунохимическим методом;
- e) методом спектрофотометрии.

3. Наиболее доступными биообъектами для доказательства употребления марихуаны являются:

- a) смывы рук;
- b) моча;
- c) слюна курильщика;
- d) плазма крови;
- e) желудочный сок.

4. Гашиш и марихуана содержат:

- a) каннабиноиды;
- b) опиаты;
- c) фенилалкиламины;
- d) производные лизергиновой кислоты.

5. Алкалоид, выделяемый из листьев (содержание ~1%) кустарника *Erythroxylon coca*, назвали:

- a) гашиш;
- b) кокаин;
- c) марихуана;
- d) анаша;
- e) опий.

6. Специфические особенности кокаина:

- a) липофильное соединение;
- b) легко преодолевает ГЭБ;
- c) полярное соединение;
- d) не проходит через ГЭБ;
- e) накапливается в жировых депо.





7. Укажите наиболее характерные утверждения для каннабиноидов:

- а) быстро всасываются в ЖКТ;
- б) быстро всасываются при курении;
- в) распределяются в жировых тканях;
- г) легко проникают через ГЭБ;
- д) плохо проникают через ГЭБ.

8. Основными метаболитами кокаина являются:

- а) метилэксгонин;
- б) норкокаин;
- в) кокаэтилен;
- г) бензоилэксгонин;
- д) эксгонин.

9. Обнаружение кокаина в слюне проводят:

- а) ВЭЖХ;
- б) методом хромато-масс-спектрометрии;
- в) ГЖХ;
- г) иммунохимическим методом;
- д) методом спектрофотометрии.

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С.275–290.



## ЗАНЯТИЕ

# 20

### БЕЗОПАСНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар «Экспериментальные животные и модели клеток. Острая и хроническая токсичность. Расчет индекса безопасности некоторых лекарственных средств».
- III. Итоговый тест.

#### *Целевые задачи*

- изучить правила проведения испытаний на токсичность разрабатываемых лекарственных препаратов;
- уметь объяснить необходимость испытаний *in vivo* и *in vitro*.

#### *Краткое теоретическое введение*

Прежде чем лекарственное средство будет использоваться человеком, необходима оценка его опасности на экспериментальных животных. Токсикологические исследования на животных незаменимы, если их нельзя провести на людях. Исследования мутагенного или канцерогенного действия лекарственных веществ, гистологических исследований изменения структуры внутренних органов, влияния на внутриутробное развитие плода возможны только на животных.

Правила, регламентирующие токсикологические исследования химических веществ, предназначенных для клини-



ческих испытаний в качестве лекарств, впервые были разработаны в 1979 г. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения, просвещения и социального обеспечения США (FDA). Эти правила, видоизмененные и усовершенствованные, в форме GLP (Good Laboratory Practice — «надлежащая лабораторная практика»), используются во многих странах при создании новых лекарственных средств. Хельсинкской декларацией закреплена необходимость проведения токсикологических исследований на животных перед первым испытанием новых лекарств на людях. Обязательное изучение безопасности лекарственных средств на животных до начала клинических испытаний предусмотрено в Законе РФ «О лекарственных средствах».

Основные экспериментальные модели при оценке токсичности будущего лекарства — это мыши, крысы, морские свинки, кролики, собаки. На проведение экспериментальных работ на животных требуется разрешение этического комитета. Использование культуры тканей, клеточных культур и субклеточных структур, как и прогнозирование токсических параметров веществ с помощью топологических индексов, не дает исчерпывающей информации, получаемой в опытах на животных. Эти методы являются лишь дополнительными. Однако даже при токсических исследованиях на животных правильный прогноз побочных эффектов у человека не превышает 70%, что объясняется сложностью экстраполяции данных, полученных на животных. Изучение токсичности нового лекарственного средства необходимо проводить на нескольких видах животных.

Чаще всего, особенно для изучения хронической токсичности, эксперименты ставят на крысах, кошках, кроликах, собаках, обезьянах и морских свинках. Чувствительность лабораторных животных к воздействию ксенобиотиков, как правило, снижается в ряду: собаки → кошки → кролики → морские свинки → мыши → крысы → обезьяны.

Доклиническое токсикологическое изучение противоопухолевых лекарственных средств можно проводить на мышах





и собаках. Более информативные результаты можно получить на крысах.

Большинство ведущих фармацевтических фирм проводят оценку безопасности новых лекарственных средств при исследовании **острой токсичности**, используя мышей и крыс; хроническую токсичность изучают на крысах и собаках.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ при доклинических токсикологических исследованиях для определения острой или хронической токсичности нового лекарственного средства необходимо использование не менее двух видов животных, один из которых — не грызуны.

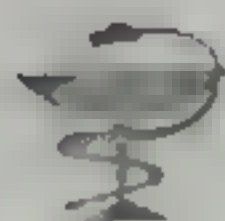
При оценке **острой токсичности** ксенобиотика обычно проводят определение  $DL_{50}$ , используя мелких лабораторных животных: белых мышей в возрасте 60–75 сут массой 18–20 г; белых крыс в возрасте 75–120 сут массой 150–240 г; морских свинок в возрасте 90–120 сут массой 450–500 г. Средняя смертельная доза является очень важной характеристикой вещества и зависит от таких факторов, как вид, пол, возраст, масса, условия содержания животного, объем вводимого препарата.

**Хроническую токсичность** лекарственного препарата изучают на различных видах лабораторных животных. Требования к продолжительности введения лекарственных средств экспериментальным животным отличаются в разных странах: в европейских странах максимальная продолжительность введения составляет 6 мес., США — 12–18 мес., в Японии — 12 мес. В некоторых случаях, например при изучении эффективности противотуберкулезных лекарственных средств, продолжительность изучения хронической токсичности может быть увеличена.

Продолжительность введения лекарственного средства лабораторным животным в хроническом токсикологическом эксперименте обычно зависит от рекомендуемой длительности его приема человеком при лечении. Например, при однократном приеме фармацевтического препарата человеком длительность введения его лабораторным животным составляет 5–7 дней. Если препарат принимают в течение 2–14 дней, то введение в эксперименте более длительное — в течение месяца.

При хронических токсикологических исследованиях целесообразно введение ксенобиотика не менее чем в 3 дозах,





чтобы можно было оценить широту терапевтического действия. Максимальная доза вещества должна обязательно вызывать симптомы интоксикации, чтобы можно было выявить органы-мишени или системы-мишени.

На основании доз, вызывающих патологические изменения в органах-мишенях у животных, используя значения коэффициента пересчета, рассчитывают суммарную дозу лекарственного вещества для человека.

Расчетный безопасный курс (РБК, сут):

$$\text{РБК} = \frac{D_{\text{ж}} \cdot t}{D_{\text{ч}} \cdot K_{\text{п}}},$$

где  $D_{\text{ж}}$  — суточная доза для животных, мг/сут;

$D_{\text{ч}}$  — суточная доза для человека, мг/сут;

$t$  — длительность введения, сут;

$K_{\text{п}}$  — коэффициент пересчета.

Используя полученные значения продолжительности безопасного курса РБК и реального клинического курса (КК) применения, указанного в инструкции по клиническому изучению или применению лекарственного средства, вычисляют индекс безопасности (ИБ):

$$\text{ИБ} = \frac{\text{РБК}}{\text{КК}},$$

где РБК — расчетный безопасный курс, сут;

КК — продолжительность клинического курса, сут.

## V I. Входной тест

### Образец варианта входного теста

1. Правила, регламентирующие порядок проведения токсикологических исследований на экспериментальных животных, называются:

- a) GMP;
- b) GCP;
- c) GLP.





2. Основные объекты для оценки токсичности лекарственных средств в опытах *in vivo*:

- а) лошади;
- б) мыши;
- с) хомяки;
- д) кролики;
- е) собаки;
- ф) лягушки.

3. Для изучения токсичности новых лекарственных препаратов в опытах *in vitro* используют следующие объекты:

- а) культуры тканей;
- б) клеточные культуры;
- с) кроликов;
- д) субклеточные культуры;
- е) морских свинок.

4. Наиболее чувствительны к действию химических веществ при изучении их токсичности:

- а) мыши;
- б) собаки;
- с) кошки;
- д) кролики.

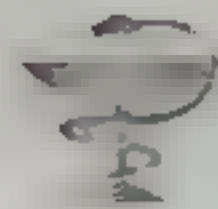
5. Объекты для исследования безвредности новых лекарственных препаратов на острую токсичность:

- а) мыши;
- б) крысы;
- с) собаки;
- д) кошки;
- е) кролики.

6. Объекты для исследования безвредности новых лекарственных препаратов на хроническую токсичность:

- а) мыши;
- б) крысы;
- с) собаки;
- д) кошки;
- е) кролики.





7. На крысах разработаны и используются модели следующих патологических состояний:

- a) диабета;
- b) гепатита;
- c) морской болезни;
- d) пиелонефрита.

8. Укажите минимальное количество доз лекарственного вещества для введения экспериментальным животным при изучении хронической токсичности:

- a) 1 доза;
- b) 2 дозы;
- c) 3 дозы;
- d) 4 дозы;
- e) 5 доз.

## V II. Семинар «Экспериментальные животные и модели клеток. Острая и хроническая токсичность. Расчет индекса безопасности некоторых лекарственных средств»

Образцы карточек индивидуального задания для расчета индекса безопасности препарата X

I. Доклиническое изучение хронической токсичности лекарственного препарата X проводили на крысах. Патологические изменения во внутренних органах крыс были обнаружены через 130 дней лечения ОРВИ.

Доза препарата составляла 250 мг/кг.

Для лечения ОРВИ у человека обычно применяют дозу 10 мг/кг/сут.

Коэффициент пересчета равен 5,9.

Рассчитайте индекс безопасности лекарственного препарата X при лечении ОРВИ у человека.





II. Доклиническое изучение *хронической токсичности* лекарственного препарата X проводили на *крысах*. Патологические изменения во внутренних органах крыс были обнаружены через 130 дней *профилактики ОРВИ*.

Доза препарата составляла 250 мг/кг.

Для профилактики ОРВИ у человека обычно применяют дозу 3 мг/кг/сут.

Коэффициент пересчета равен 5,9.

Рассчитайте *индекс безопасности* лекарственного препарата X при профилактике ОРВИ у человека.

III. Доклиническое изучение *хронической токсичности* лекарственного препарата X проводили на *морских свинках*. Патологические изменения во внутренних органах животных были обнаружены через 90 дней *лечения ОРВИ*.

Доза препарата составляла 250 мг/кг.

Для лечения ОРВИ у человека обычно применяют дозу 10 мг/кг/сут.

Коэффициент пересчета равен 4,7.

Рассчитайте *индекс безопасности* лекарственного препарата X при лечении ОРВИ у человека.

IV. Доклиническое изучение *хронической токсичности* лекарственного препарата X проводили на *морских свинках*. Патологические изменения во внутренних органах животных были обнаружены через 90 дней *профилактики ОРВИ*.

Доза препарата составляла 250 мг/кг.

Для профилактики ОРВИ у человека обычно применяют дозу 3 мг/кг/сут.

Коэффициент пересчета равен 4,7.

Рассчитайте *индекс безопасности* лекарственного препарата X при профилактике ОРВИ у человека.

V. Доклиническое изучение *хронической токсичности* лекарственного препарата X проводили на *кроликах*. Патологические изменения во внутренних органах животных были обнаружены через 60 дней *лечения ОРВИ*.

Доза препарата составляла 250 мг/кг.





Для лечения ОРВИ у человека обычно применяют дозу 10 мг/кг/сут.

Коэффициент пересчета равен 3,2.

Рассчитайте *индекс безопасности* лекарственного препарата X при лечении ОРВИ у человека.

VI. Доклиническое изучение *хронической токсичности* лекарственного препарата X проводили на кроликах. Патологические изменения во внутренних органах животных были обнаружены через 60 дней *профилактики* ОРВИ.

Доза препарата составляла 250 мг/кг.

Для профилактики ОРВИ у человека обычно применяют дозу 3 мг/кг/сут.

Коэффициент пересчета равен 3,2.

Рассчитайте *индекс безопасности* лекарственного препарата X при профилактике ОРВИ у человека.

## V III. Итоговый тест

### Образец варианта итогового теста

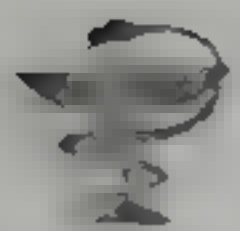
1. Тесты для контроля функционального состояния печени при изучении хронической токсичности включают следующие показатели:

- а) гексеналовый сон;
- б) общий белок сыворотки крови;
- в) сахар крови;
- г) желчные кислоты;
- д) общий холестерин сыворотки крови.

2. Тесты для контроля функционального состояния печени при изучении хронической токсичности включают следующие показатели:

- а) активность щелочной фосфатазы;
- б) бромсульфаленовую пробу;
- в) протеинурию;
- г) калий сыворотки крови;
- д) белковые фракции сыворотки крови.





3. Основными показателями нарушения функции почек при изучении хронической токсичности являются:

- a) сахар крови;
- b) удельный вес мочи;
- c) изменение скорости клубочковой фильтрации;
- d) мочевины крови;
- e) общий белок сыворотки крови;
- f) протеинурия;
- g) кислотность мочи;
- h) белковые фракции сыворотки крови;
- i) активность щелочной фосфатазы.

4. Основные показатели для оценки состояния сердечно-сосудистой системы при токсикологическом изучении новых лекарственных средств:

- a) скорость кровотока;
- b) мочевины крови;
- c) объем циркулирующей крови;
- d) электрокардиограмма;
- e) сахар крови.

5. Тесты при оценке состояния периферической крови животных в хронических токсикологических экспериментах включают определение:

- a) скорости свертывания крови;
- b) сахара крови;
- c) резистентности эритроцитов;
- d) лейкоцитарной формулы;
- e) скорости кровотока.

6. Закончите выражение и опишите экспериментальное определение соответствующего показателя биологической активности:

Показатель, представляющий собой соотношение  $DE_{50}/DL_{50}$ , носит название ..... Для его оценки используют (биоло-





гический объект — человек, животные, клеточные культуры...). Как проводят определение  $DE_{50}$  и  $DL_{50}$ ?

7. Дайте понятие определению коэффициента пересчета дозы  $K_{\pi}$ .

Охарактеризуйте этот коэффициент по возможности полнее.

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 291–305.
3. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. — М.: Рус. врач, 2003. — 154 с.



## ЗАНЯТИЕ

# 27

### ОСОБЕННОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА (ХТА) ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар «Краткая химико-токсикологическая характеристика основных представителей алкалоидов, барбитуратов, сердечных гликозидов, производных фенотиазина и бензодиазепина».
- III. Лабораторная работа «Химико-токсикологический анализ наркотических и лекарственных веществ».

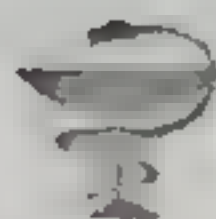
#### *Целевые задачи*

- научиться составлять схему проведения химико-токсикологического анализа в зависимости от предполагаемой структуры лекарственного средства;
- изучить микрокристаллоскопические реакции на примере производных барбитуровой кислоты.

#### *Краткое теоретическое введение*

Лекарственные средства являются причиной примерно половины всех острых отравлений. По мировой статистике, около трети смертельных отравлений происходит в резуль-





тате приема барбитуратов и транквилизаторов, иногда в комбинации с наркотическими веществами различных классов. Термин «лекарственная зависимость», или токсикомания, практически эквивалентен термину «наркотическая зависимость», или наркомания.

Отравления лекарственными средствами возможны не только при лекарственной зависимости и передозировке, но и при использовании их в терапевтических дозах — при нарушении режима дозирования, несовместимости, применении фальсификатов и др. Особенно опасно использование недопустимых многокомпонентных комбинаций различных лекарственных веществ. Требования к проведению химико-токсикологических исследований при определении в организме токсичных веществ (психотропных, наркотических, алкоголя и др.) закреплены законодательно в Приказе Минздравсоцразвития от 27.01.06 № 40 (см. приложение 1.2).

Задачей химико-токсикологического анализа является идентификация лекарственного вещества на ранних стадиях отравления, в начале токсикогенного периода, когда наблюдаются специфические токсические эффекты. При ХТА объектами исследования являются, как правило, моча, кровь (цельная, сыворотка и плазма крови), слюна; иногда могут быть использованы волосы, ногти, пот (см. приложение 21.1). При судебно-химических исследованиях анализируют трупный материал. В качестве вещественных доказательств могут подвергаться анализу различные лекарственные формы фармацевтических препаратов (порошки, таблетки, капсулы, драже, микстуры, инъекционные растворы). Определение токсичных веществ в биологических материалах и альтернативных объектах проводят сотрудники химико-токсикологической лаборатории — врачи, провизоры, химики, прошедшие подготовку по специальности «Клиническая лабораторная диагностика» и «Аналитическая токсикология» (см. приложение 21.1).

Среди лекарственных препаратов, отнесенных к группе лекарственных средств, вызывающих психотропные эффекты и зависимость, следует в первую очередь обратить внимание на производные барбитуровой кислоты, 1,4-бензодиазепинов, фенилалкиламины и производные фенотиазина.





По фармакологической классификации производные барбитуровой кислоты (барбитураты) обладают снотворным, наркотическим и противосудорожным эффектом. Большинство из них являются депрессантами центральной нервной системы.

Для скринингового определения барбитуратов используют иммунохимические методы — ИФА, РИА, ПФИА (см. занятие 15). При направленном анализе на барбитураты применяют УФ-спектрофотометрию. Электронные спектры барбитуратов (рис. 21.1) зависят от pH растворов в связи с существованием таутомерных форм, протонированных и депротонированных (рис. 21.2). Расчет концентрации проводят по формуле

$$C = \frac{\Delta A}{\Delta \epsilon l},$$

где  $l$  — толщина кюветы, см.

Барбитураты могут быть определены также методами ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ, ГХ-МС. При проведении определения методом ТСХ исследуют кислый экстракт биожидкости. Для разделения барбитуратов методом ТСХ используются различные под-

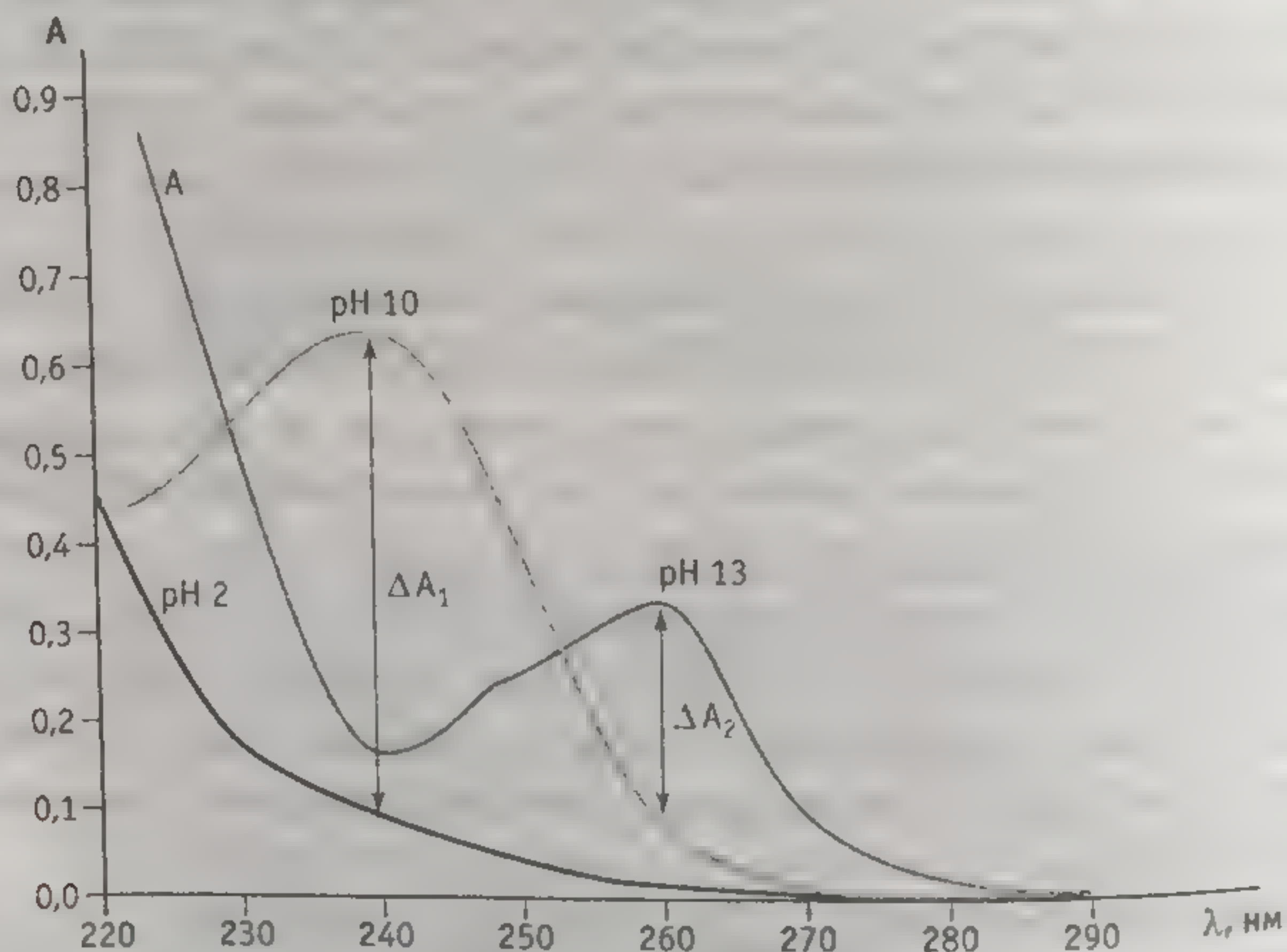


Рис. 21.1. Спектры поглощения барбитуратов при различных pH:

$\Delta A_1 = A_{\text{pH}10} - A_{\text{pH}2}$  — при количественном определении во внутренних органах трупа;  $\Delta A_2 = A_{\text{pH}13} - A_{\text{pH}10}$  — при количественном определении в крови и моче



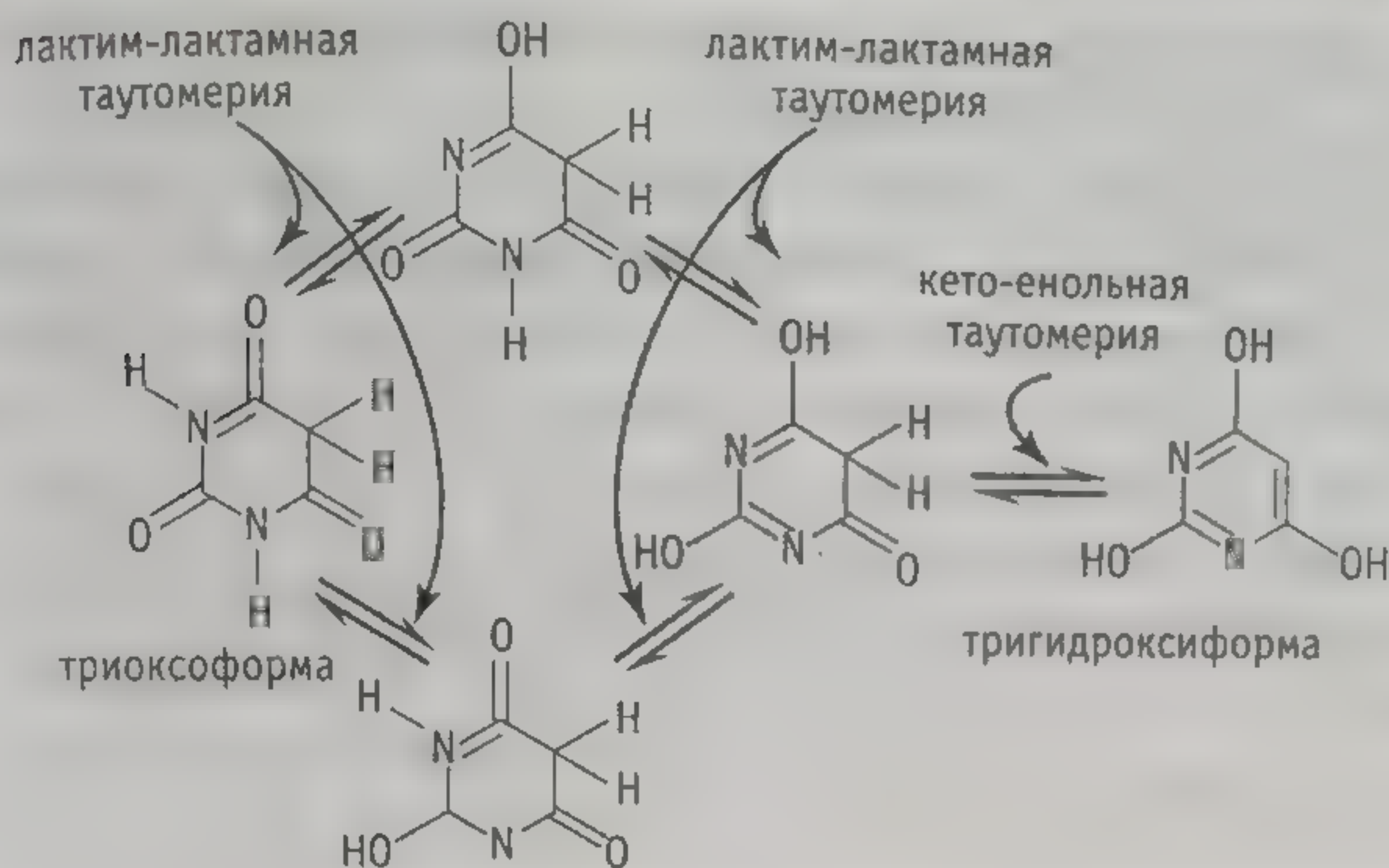


Рис. 21.2. Таутомерные равновесия барбитуровой кислоты

вижные фазы. Например, для пластинок «Сорбфил» — это смесь хлороформ-изопропанол-25%-ный аммиак (9:9:1). Для обнаружения пятен на хроматограмме применяют 1%-ный раствор  $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$ , дифенилкарбазон или 0,2%-ный спиртовой раствор флуоресцеина (люминесценция в УФ-свете).

Лекарственные средства, производные 1,4-бензодиазепина (хлордиазепоксид, оксазепам, нитразепам, диазепам, феназепам, медазепам, алпрозолам и др.) (рис. 21. 3), относят-

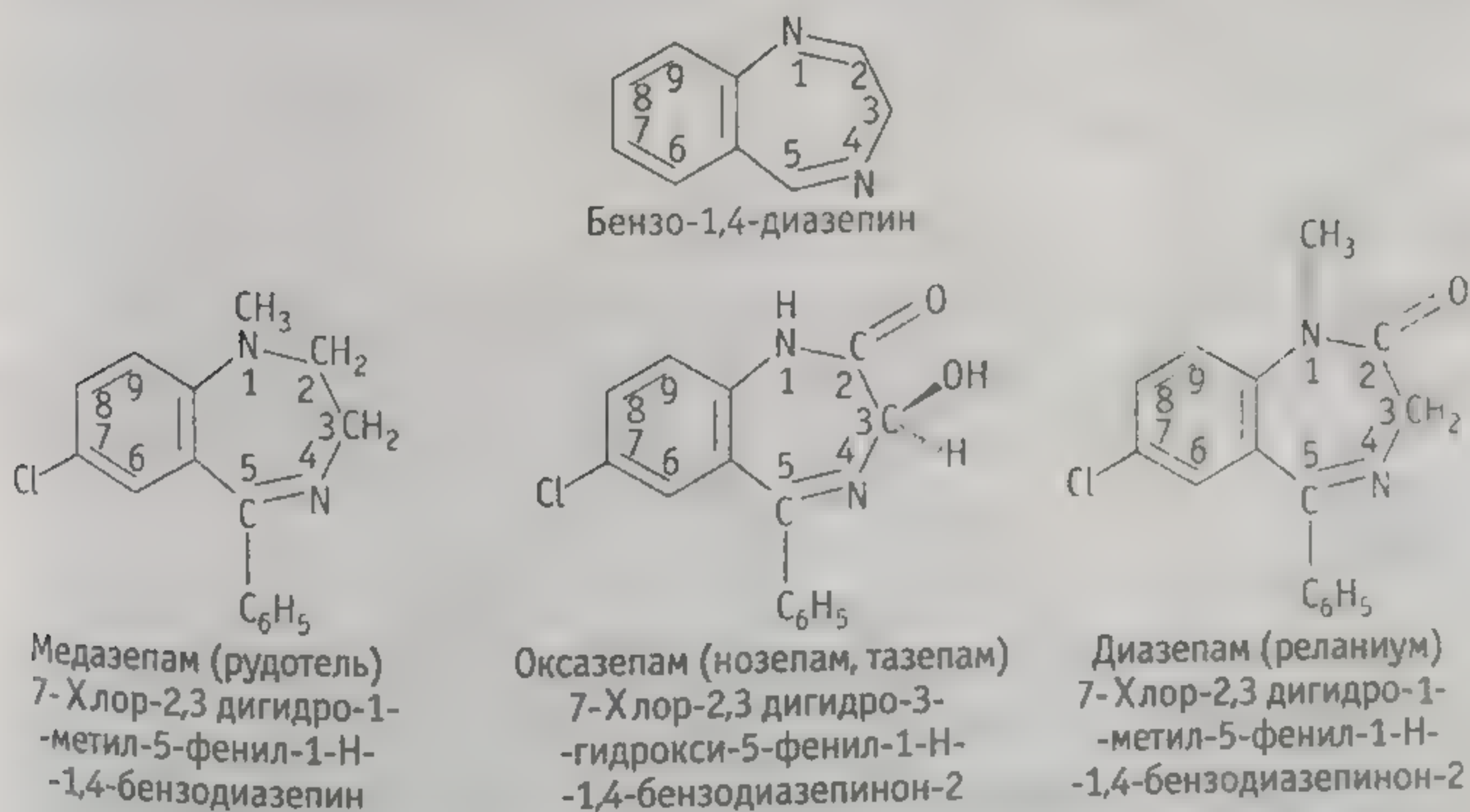


Рис. 21.3. Структурные формулы лекарственных веществ, производных 1,4-бензодиазепина





ся к седативным средствам (транквилизаторам — устраняют чувство страха и/или тревоги).

В мировой медицинской практике применяют около 20 препаратов этой группы. В отличие от нейролептиков они не обладают антипсихотической активностью. Отравления веществами данной группы встречаются достаточно часто из-за многочисленных неоправданных применений и передозировки.

Экспресс-определение бензодиазепинов в трупном материале проводят иммунохимическими методами. УФ-спектры производных 1,4-бензодиазепинов заметно отличаются, несмотря на присутствие однотипных хромофоров (ароматической системы и азометиновой группы) (рис. 21.4). Это позво-

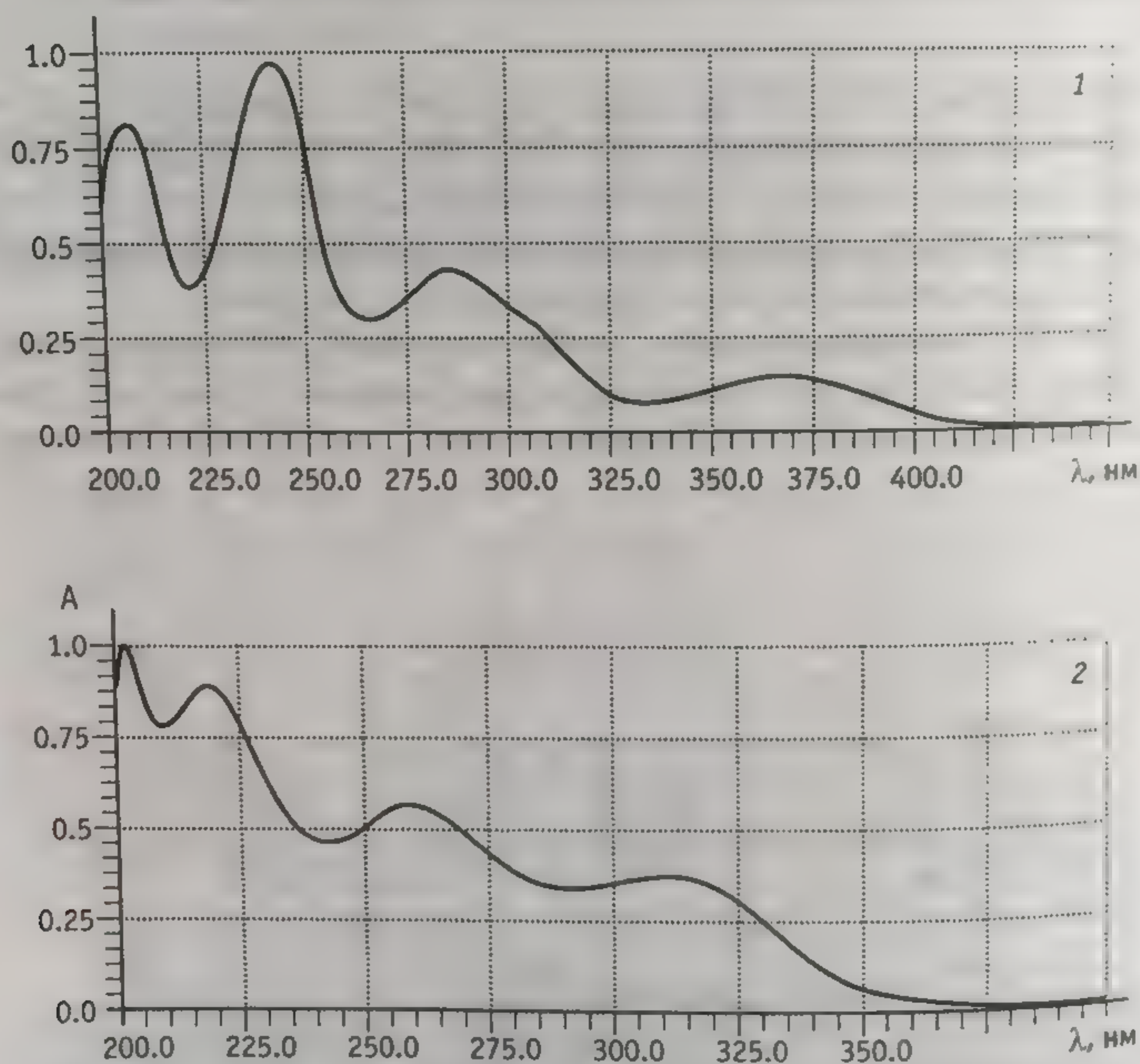


Рис. 21.4. УФ-спектры диазепама (1) — 1 г в 100 мл раствора серной кислоты в этаноле (3:1000); нитразепама (2) и медазепама (3) — 1 г в 100 мл этанола



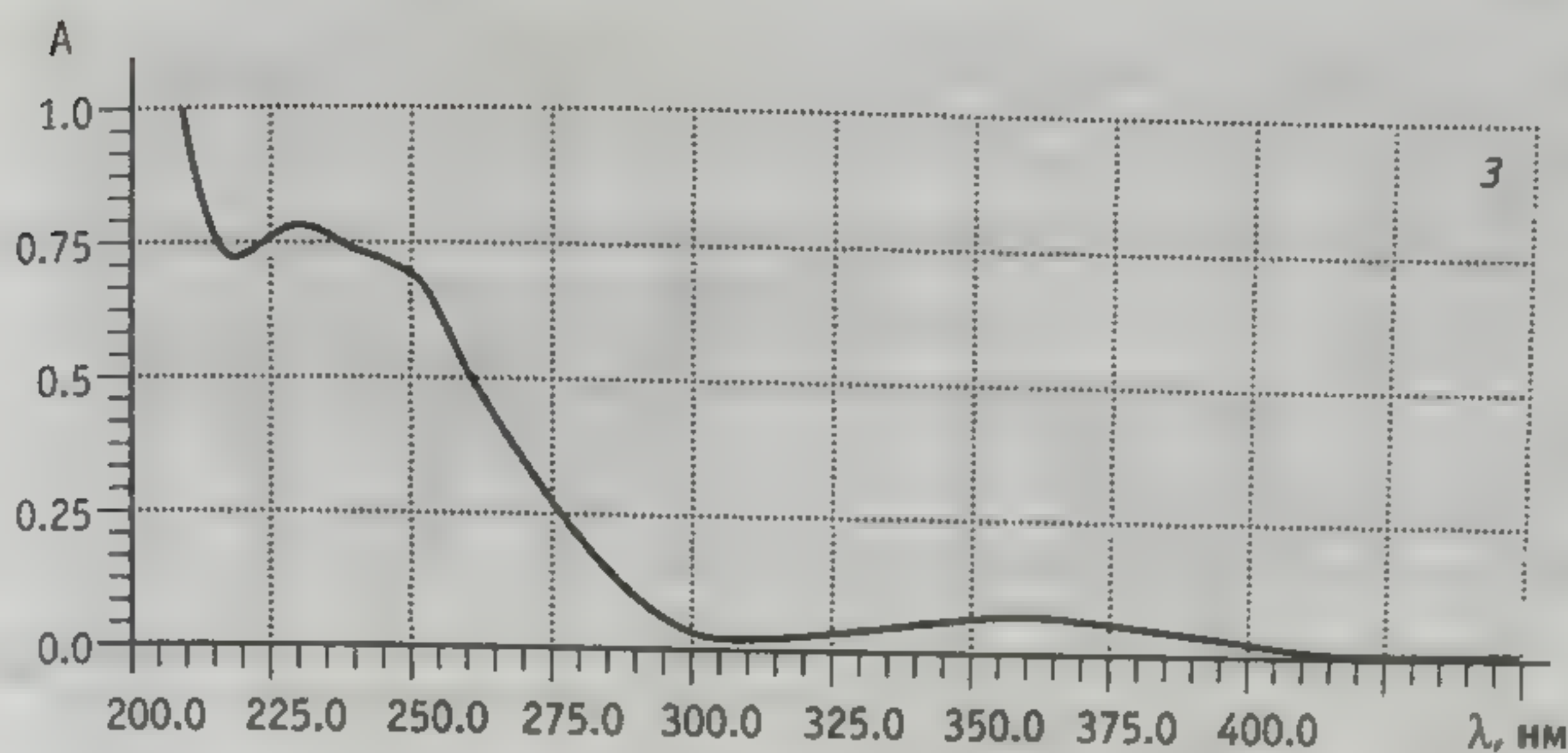


Рис. 21.4. (Продолжение)

ляет конкретизировать природу токсиканта внутри одного химического класса.

Для скрининговых исследований при отравлении производными 1,4-бензодиазепина широко применяют метод ТСХ. В биологических жидкостях определяют продукты биотрансформации, например бензофенонов, образующихся при гидролизе бензодиазепинов.

Фенилалкиламины, например адреналин, эфедрин (рис. 21.5–21.7), — адреномиметики. Некоторые вещества из этого класса (амфетамин, метамфетамин) являются стимуляторами нервной системы. Терапевтическая концентрация фенилалкиламинов в плазме крови находится в интервале 50–100 нг/мл. Признаки отравления наступают при содержании более 200 нг/мл.

В смеси различных фенилалкиламинов возможна УФ-идентификация кетона эфедрона — наркотика, синтезируемого из эфедрина, благодаря значительным отличиям значений его молярной экстинкции.

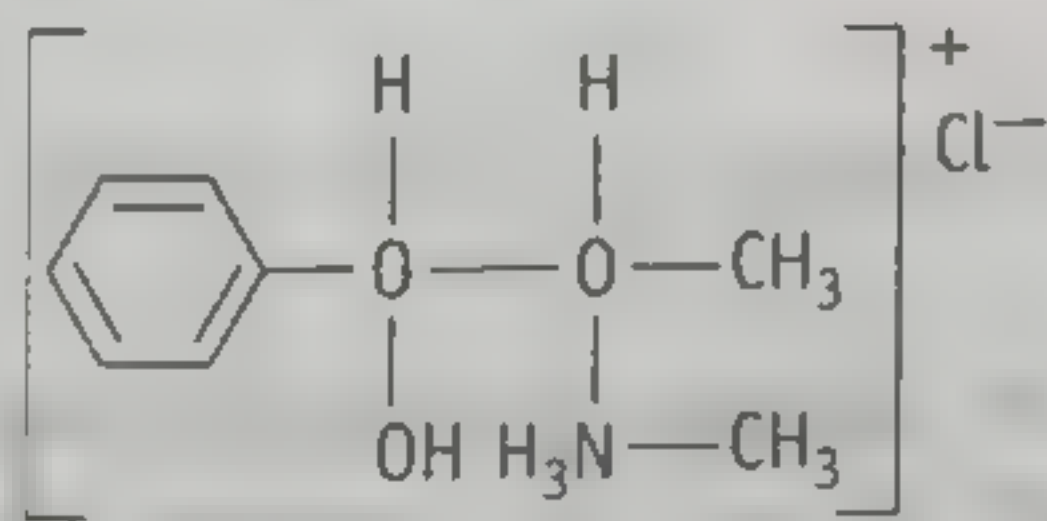


Рис. 21.5. Химическая структура эфедрина гидрохлорида (L-о-2-метиламино-1-фенил-пропанола-1-гидрохлорид)



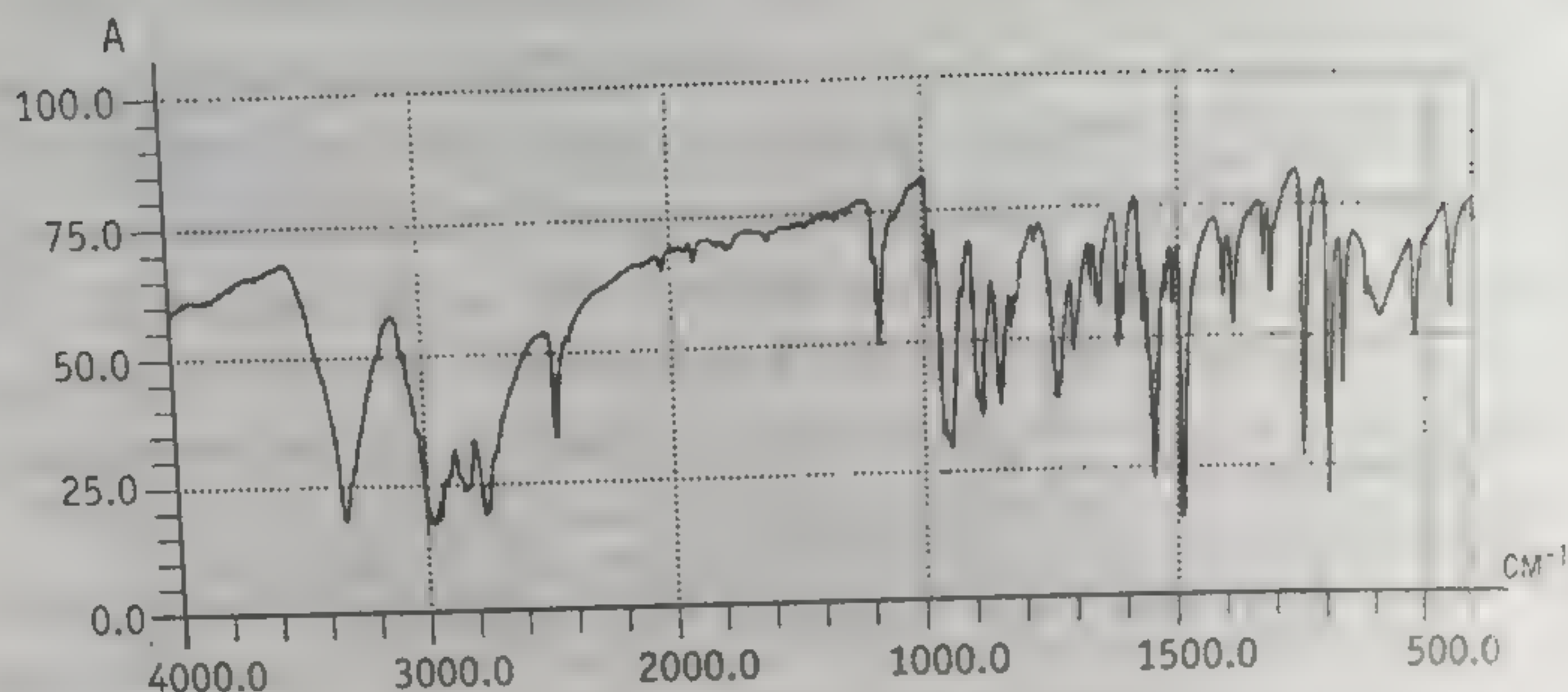
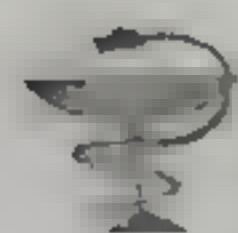


Рис. 21.6. ИК-спектр эфедрина гидрохлорида (в KCl-дисках)

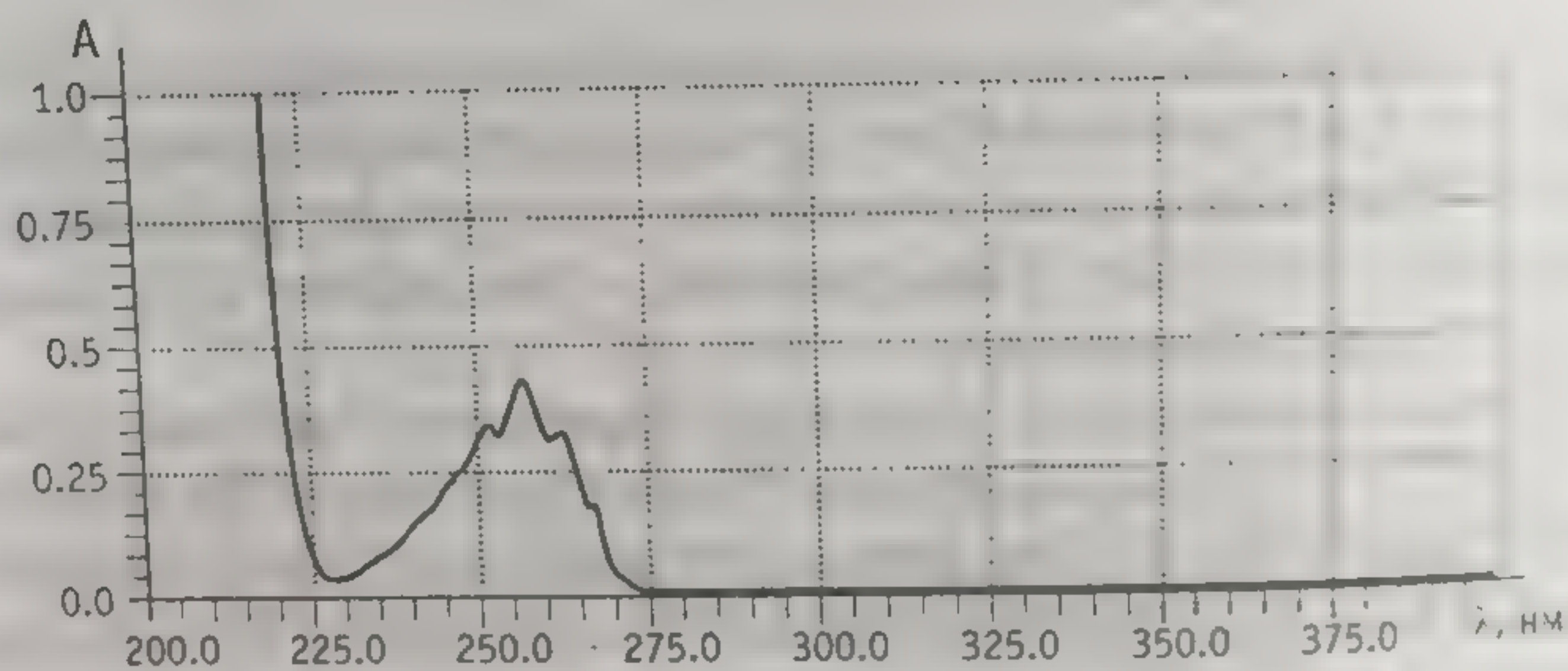


Рис. 21.7. Спектр поглощения эфедрина гидрохлорида (водный раствор 1:2000)

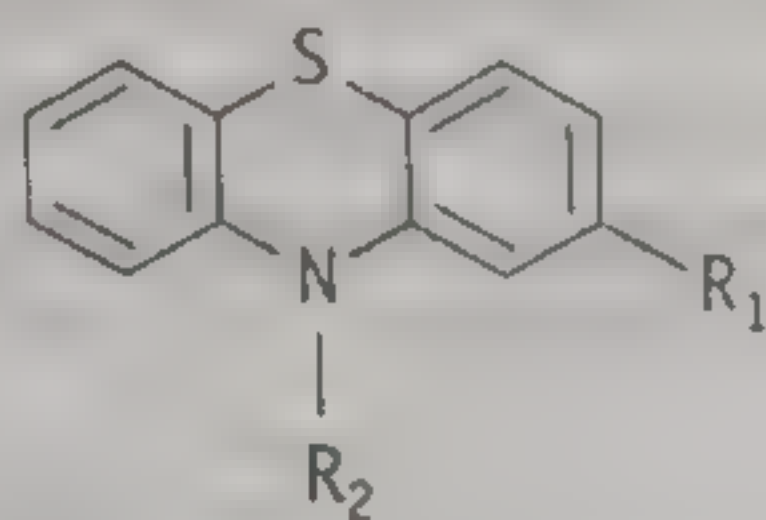


Рис. 21.8. Общая формула производных фенотиазина

Среди лекарственных средств, производных фенотиазина, значительную группу образуют антипсихотические средства, или нейролептики, — аминазин, пропазин, дипразин и др. Все они —  $N_{10}$ -алкилпроизводные фенотиазина (рис. 21.8).



Для экспресс-определения фенотиазинов в моче используют реакцию с FNP-реактивом — смесью водных растворов хлорида железа, перхлорной и азотной кислот (1:9:10). Окраска от розового до сине-фиолетового цвета — свидетельство возможного присутствия фенотиазинов или их метаболитов. Возможны ложные результаты — вследствие неспецифичности реакции: имипрамин (трициклический антидепрессант) дает зеленое окрашивание.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

1. *Процесс кумуляции — это:*

- а) видоизменение яда в более токсичное вещество;
- б) накопление яда в неизменном виде;
- с) суммарное действие нескольких ядов.

2. *К группе трициклических антидепрессантов относятся:*

- а) фенобарбитал;
- б) амитриптилин;
- с) левомепромазин;
- д) имизин;
- е) дезипрамин.

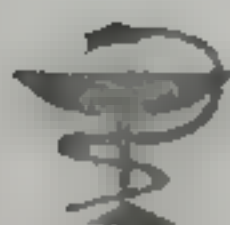
3. *К группе сердечных гликозидов относятся:*

- а) дигитоксин;
- б) люминал;
- с) амитриптилин;
- д) лантозид;
- е) строфантин.

4. *Проникают ли производные фенотиазина психотропного действия через плаценту плода человека:*

- а) не проникают;
- б) проникают.





5. Скрининг барбитуратов проводят:

- a) ВЭЖХ;
- b) ГХ-МС;
- c) ГЖХ;
- d) ИФА;
- e) ПФИА.

6. Для экспресс-определения фенотиазинов в моче используют реакцию с:

- a) реактивом Марки;
- b) концентрированной серной кислотой;
- c) солью Рейнеке;
- d) FNP-реактивом;
- e) реактивом Драгендорфа.

7. Каковы основные симптомы острого отравления производными барбитуровой кислоты:

- a) угнетение центральной нервной системы;
- b) острая почечная недостаточность;
- c) паралич дыхательной мускулатуры и диафрагмы.

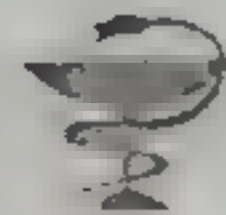
8. Детектирование производных фенотиазина при проведении ТСХ проводят:

- a) концентрированной серной кислотой;
- b) реактивом Марки;
- c) спиртовым раствором концентрированной серной кислоты;
- d) FNP-реактивом;
- e) реактивом Драгендорфа.

9. При использовании метода ТСХ для проявления пятен барбитуратов используют следующие реактивы:

- a) концентрированную серную кислоту;
- b) реактив Марки;
- c) сульфат ртути;
- d) дифенилкарбазон;
- e) железоплатиновый реактив.





10. Определение производных бензодиазепина проводят, используя:

- а) исходные вещества;
- б) продукты гидролиза;
- с) метод ТСХ;
- д) метод ВЭЖХ.

## **V II. Семинар «Краткая химико-токсикологическая характеристика основных представителей алкалоидов, барбитуратов, сердечных гликозидов, производных фенотиазина и бензодиазепина»**

### **Задачи**

I. В химико-токсикологическое отделение клинической больницы г. П. поступил мужчина с подозрением на отравление. Он находился в состоянии глубокого сна, с угнетенным дыханием. Показатели давления: 80/40. Со слов родственников пострадавшего известно, что он был подвержен приступам эпилепсии и принимал ряд препаратов в целях облегчения протекания приступов заболевания.

II. В химико-токсикологическое отделение клинической больницы г. Х. поступила женщина с подозрением на отравление производными бензо-1,4-дiazепина (сабизон). Укажите возможные симптомы отравления.

III. У мужчины, находящегося в состоянии острого алкогольного психоза, внезапно началась рвота. Для купирования приступа рвоты врач ввел пациенту содержимое сразу двух ампул лекарственного препарата. В результате АД у пациента резко снизилось. Развились отек слизистых оболочек, пигментация кожи и ретинопатия. Мужчину пришлось госпитализировать.

IV. В химико-токсикологическое отделение клинической больницы г. Х. поступила женщина в обморочном состоянии





с синусовой брадикардией. У пациентки была хроническая сердечная недостаточность, и она постоянно принимала лекарственные препараты для поддержания физиологической функции сердца.

При решении задач сделайте предположение, каким из представленных препаратов могло произойти отравление: *диазепамом, хлордиазепоксидом, феназепамом, карбамазепином, фенobarбиталом, аминазином, барбиталом, амитриптилином, дигитоксидом.*

Предложите схему проведения ХТА токсиканта, ответив на следующие вопросы:

- 1) Направленный или ненаправленный метод анализа?
  - 2) Токсическая концентрация лекарственного препарата.
  - 3) Формула и фармакологическая группа.
  - 4) Какие биожидкости необходимо исследовать? Почему?
- Методы изолирования.

5) Перечислите основные стадии ХТА при исследовании веществ (таблетки, жидкость, порошок).

6) Укажите предварительные и подтверждающие качественные реакции для идентификации токсиканта (используйте «цветные тесты»); напишите предполагаемый механизм реакций.

7) Количественное определение токсиканта.

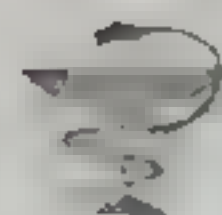
### V III. Лабораторная работа «Химико-токсикологический анализ наркотических и лекарственных веществ»

#### Задание 1

В судебно-химическую лабораторию на анализ поступило 5 образцов биоматериала с подозрением на отравление производными алкалоидов (кодеина фосфат, атропина сульфат, папаверина гидрохлорид).

1. Проведите изолирование алкалоидов из биоматериала (теор.).





2. В данных образцах (1–5) определите возможное наличие токсикантов (использование общеалкалоидных реактивов).

#### Методика проведения реакций

В пробирку поместите 1 мл испытуемого раствора, по каплям добавьте общеалкалоидный реактив до появления осадка или помутнения раствора.

Результаты отметьте в таблице:

№ раствора	раствор $I_2/KI$	Результаты		
		фосфорно-молибденовая кислота	фосфорно-вольфрамовая кислота	кремне-вольфрамовая кислота

3. Укажите возможные реакции метаболизма.

4. Приведите качественные специфические (подтверждающие) реакции.

5. Предложите методы количественного определения.

#### Задание 2

Необходимо провести ХТА вещественных доказательств — трех образцов порошка. Предварительные исследования (ненаправленный анализ) показали наличие производных барбитуровой кислоты, это могут быть: фенобарбитал, барбамил, барбитал натрий.

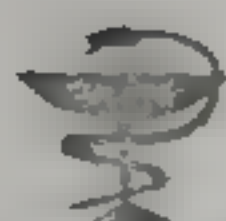
1. Укажите общие реакции обнаружения производных барбитуровой кислоты.

2. Проведите исследование образцов с помощью микрокристаллоскопических реакций.

#### Методика проведения реакций

Несколько крупинок порошка поместите на предметное стекло и растворите в капле концентрированной серной кислоты. К прозрачному раствору добавьте каплю дистиллированной воды, сразу же или через 20–30 мин выделяется осадок, который при исследовании под микроскопом имеет





характерный для каждого из токсикологически важных барбитуратов вид.

Кристаллы зарисуйте. Сравните полученные вами кристаллы с фотографиями. Сделайте вывод, присутствие какого барбитурата вы обнаружили.

3. Опишите частные реакции идентификации барбитуратов.

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 305–314.
3. Фланаган Р.Дж. и соавт. Основы аналитической токсикологии. — Женева: Всемирная организация здравоохранения, 1997. — С. 72–76.
4. Швайкова М.Д. Токсикологическая химия. — М.: Медицина, 1975. — 289 с.
5. Крамаренко В.Ф. Химико-токсикологический анализ. — К.: Выща шк. Головное изд-во, 1982. — 272 с.
6. Лабораторная диагностика острых химических отравлений: Пособие для врачей / Сост. Белова М.В., Лисовик Ж.А., Ключев А.Е. и др. — М.: Миклош, 2003. — 46 с.
7. Руденко Б.А., Коваленко А.Е., Галузин К.А. и др. Химико-аналитическое определение наркотических и допинговых средств. — М.: Нарконет, 2007. — 368 с.



## ЗАНЯТИЕ

# 22

### ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕСТИЦИДОВ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Лабораторно-практическое занятие.

#### *Целевые задачи*

- изучить определения: «пестициды», «гербициды», «фунгициды», «инсектициды», «акарициды»;
- ознакомиться с классификациями пестицидов;
- изучить механизмы действия хлорорганических соединений антихолинэстеразных препаратов, производных бипиридила, нитросоединений и пиретроидов;
- обсудить особенности химико-токсикологического анализа пестицидов.

#### *Краткое теоретическое введение*

Применение пестицидов стало неотъемлемой частью народного хозяйства. Человек все чаще подвергается воздействию этих веществ. Пестициды представлены различными химическими группами и значительно различаются по своим физико-химическим свойствам.

Согласно ФЗ «О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами» 1997 г. (см. приложение 22.1) пестициды — это химические или биологические препараты, исполь-





зубые для борьбы с вредителями и болезнями растений, сорными растениями, вредителями хранящейся сельскохозяйственной продукции, бытовыми вредителями и внешними паразитами животных, а также для регулирования роста растений, предуборочного удаления листьев (дефолианты), предуборочного подсушивания растений (десиканты).

Существует несколько классификаций пестицидов. Так, пестициды можно классифицировать по видам вредителей, на которые они воздействуют. Например, гербициды — вещества для уничтожения сорных растений, фунгициды — для уничтожения грибов, инсектициды — для уничтожения насекомых. Классификация пестицидов по токсичности позволяет в зависимости от  $DL_{50}$  отнести препараты пестицидов к соответствующему классу токсичности: особо токсичные, высокотоксичные, среднетоксичные и малотоксичные (табл. 22.1).

В соответствии с химической классификацией пестициды подразделяют на 3 класса: неорганические соединения, органические соединения и металлоорганические соединения. В настоящее время наиболее широко применяются органические пестициды, представленные веществами природного происхождения или продуктами химического синтеза (см. приложение 22.2).

Таблица 22.1

## Классификация пестицидов по токсичности

Класс	$DL_{50}$ , мг/кг (крысы, внутрь)
Особо токсичные	< 2
Высокотоксичные	50–200
Среднетоксичные	200–1000
Малотоксичные	> 1000

## Химико-токсикологическая характеристика пестицидов

## 1. Хлорорганические соединения

Хлорорганические пестициды (ХОП) используются в основном в качестве инсектицидов. Они действуют на нервную систему организма-мишени. Действие инсектицидов несе-





лективно и поэтому распространяется не только на организмы-мишени, но и на другие виды насекомых. Инсектициды воздействуют на транспортные системы переноса через мембраны ионов натрия, калия, кальция и хлора; ингибируют ферментативную активность; влияют на высвобождение медиаторов в нервных окончаниях.

Хлорорганические инсектициды давно и широко используются в развивающихся тропических странах. Они эффективны, недороги и стали основными химическими препаратами в сельском хозяйстве, лесоводстве и здравоохранении.

## 2. Антихолинэстеразные препараты

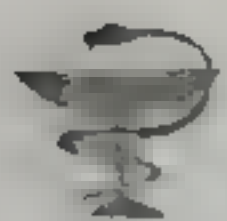
На мировом рынке существует около 200 различных инсектицидных препаратов — фосфорорганических эфиров, 25 из которых — на основе эфиров карбаминовых кислот. Хотя все фосфорорганические эфиры были получены из «нервных газов» (химические яды зоман, зарин, табун), современные инсектициды являются 4-м поколением и значительно отличаются от своих токсичных предшественников.

Инсектициды на основе фосфорорганических эфиров и эфиров карбаминовых кислот проявляют свою токсичность путем ингибирования ацетилхолинэстеразы, фермента, ответственного за разрушение и прекращение биологической активности медиатора ацетилхолина.

Они дают стойкий нейротоксический эффект. При воздействии на организм препаратов этой группы могут нарушаться нервно-психические, опознавательные и нервно-мышечные функции. Эти нарушения могут вызвать желудочно-кишечные расстройства, заболевания сердечно-сосудистой системы, признаки преждевременного старения, снижение потенции и либидо. Эти органно-неврологические нарушения могут развиваться и сохраняться в течение 5–10 лет.

Симптомы острой интоксикации карбаматными инсектицидами отличаются от описанных для фосфорорганических соединений (ФОС) по продолжительности и интенсивности токсического действия. Карбаматные инсектициды являются обратимыми ингибиторами ацетилхолинэстеразы нервной ткани с быстрой биотрансформацией в организме.





## Фосфорорганические соединения

Фосфорорганические инсектициды, имеющие широкий спектр применения, представляют собой эфиры фосфорной, фосфоновой и тиофосфорной кислот. По химической классификации они относятся к эфирам алкантиолов с тиофосфорными кислотами (карбофос, фосфамид), к сложным эфирам фенолов, их нитропроизводных и тиофосфорной кислоты (метафос, метилнитрофос).

При попадании в организм насекомого инсектициды могут связываться с ацетилхолинэстеразой. При блокировании фермента нарушается передача нервных импульсов, поскольку фермент оказывается недоступен для молекул эндогенного нейромедиатора. Фосфорорганические инсектициды ядовиты не только для насекомых, но и для человека, поэтому необходима разработка безопасных для теплокровных животных инсектицидов других классов.

### Эфиры карбаминовой кислоты

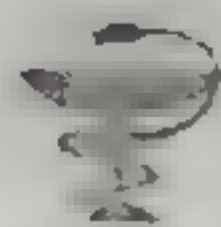
Эфиры моно-N-алкилзамещенной карбаминовой кислоты с фенолами и нафтолами проявляют инсектицидные свойства, один из них — карбарил (севин),  $\alpha$ -нафтил-N-метилкарбамат.

### 3. Производные бипиридила

С середины прошлого века большую известность приобрели синтетические гербициды пиридинового ряда паракват и дикват. Это контактные гербициды неизбирательного действия, они уничтожают наземную часть сорняка. Дикват обладает также свойствами дефолианта (удаляет листву деревьев).

Паракват используется для уничтожения сорняков и посадок марихуаны более чем в 100 странах и является одним из наиболее специфических легочных токсикантов. Отравления вызывают гипоксию, одышку, тахикардию, диарею, атаксию, чрезмерную возбудимость и конвульсии и сопровождаются высокой смертностью. При вскрытии у животных обнаруживают геморрагии и отек легких, легочный фиброз, некроз печени и почечных канальцев. Масса легких значительно увеличивается, несмотря на уменьшение массы тела. Гистопатологическая картина легких идентична у мышей, крыс, собак и людей. Па-





ракват имеет низкую пероральную абсорбцию и в тканях млекопитающих метаболизируется незначительно.

Дикват — быстродействующий контактный гербицид, менее токсичный, чем паракват. Гербицид мало абсорбируется из ЖКТ. Основные органы-мишени: ЖКТ, печень и почки. Дикват способствует образованию свободных радикалов, некроз тканей связан с пероксидным окислением липидов, как при действии параквата.

#### 4. Нитросоединения

Существуют динитрофенолы как с гербицидными, так и рострегулирующими свойствами. Например, динитро-о-крезол (ДНОК) используют для прореживания цветков и плодов у яблонь.

Метаболические превращения сопровождаются восстановлением нитрогрупп до аминогрупп и частичным ацетилированием. Полярные продукты легко выводятся с мочой.

#### 5. Производные 2, 2-диметилциклопропанкарбоновой кислоты — пиретроиды

Циклопропанкарбоновые кислоты (хризантемовая, пиретриновая) в виде сложных эфиров образуют группу природных контактных инсектицидов — пиретринов.

Препараты природных пиретринов получают экстракцией из цветков далматской ромашки (*Pyrethrum cinerariifolium*).

В настоящее время разработаны промышленные методы получения пиретроидов — аналогов природных соединений, но со значительно большей фотоустойчивостью.

Перметрин — 3-феноксibenзил (1RS)-цис, транс-3-(2,2-дихлоровинил)-2,2-диметилциклопропанкарбоксилат (амбуш) представляет собой феноксibenзиловый эфир перметриновой кислоты. Применяется главным образом для борьбы с листогрызущими насекомыми, например гусеницами.

Дельтаметрин — (S)- $\alpha$ -циано-3-феноксирбензил (1R, цис)-2,2-диметил-3-(2,2-дибромовинил) циклопропанкарбоксилат.

Циперметрин — (RS)- $\alpha$ -циано-3-феноксibenзил (1RS)-цис, транс-3-(2,2-дихлоровинил)-2,2— диметилциклопропанкарбоксилат (цимбуш).





Природный пиретрум состоит из смеси 6 эфиров. Он является контактным и желудочным ядом с высокой эффективностью действия. Синтетические эфиры селективны к определенным видам насекомых.

Несмотря на незначительную токсичность для млекопитающих, пиретрум может вызывать контактный дерматит, приступы удушья, анафилактические реакции и коллапс. Токсичность природных пиретринов для человека связана с их аллергенными свойствами, но сведения об аллергических реакциях у человека, вызываемых синтетическими эфирами пиретроидов, недостаточны.

Отравления при профессиональной деятельности приводят к разнообразным токсическим реакциям. Прием внутрь вызывает боль в эпигастрии, тошноту, рвоту, головную боль, головокружение, анорексию, усталость, стеснение в груди, тахикардию, нарушение сознания. При тяжелых отравлениях возможны судорожные припадки с потерей сознания. Данные о хронической токсичности отсутствуют.

Хотя эфиры пиретроида гидролизуются неспецифической карбоксилэстеразой, микросомальная система монооксигеназы, обнаруженная в тканях почти всех видов млекопитающих, в значительной степени является основой детоксикации эфиров пиретроида в организме.

### Определение пестицидов в биоматериалах

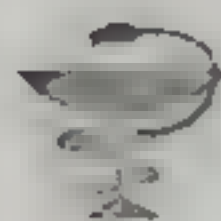
#### Способы пробоподготовки

Для изолирования определяемого вещества используют жидкостную экстракцию, твердофазную экстракцию, перегонку с водяным паром, сублимацию в вакууме, минерализацию.

Жидкостная экстракция органическими растворителями применяется для изолирования хлорорганических пестицидов, фосфорорганических соединений, пиретроидов, производных карбаминовой кислоты, четвертичных аммониевых оснований, металлоорганических пестицидов.

Твердофазная экстракция на химически модифицированных сорбентах с неполярными гидрофобными группами и на силикагелях может применяться при определении пестицидов в природных водах, почвах, моче.





Перегонку с водяным паром используют при определении термически неустойчивых летучих соединений, например для хлорорганических пестицидов. Линдан, ДДТ, гептахлор, фосфорорганические соединения и пиретроиды при обычной перегонке разлагаются.

Сублимация в вакууме применяется в основном для изолирования некоторых фосфорорганических соединений.

Минерализацию используют при определении р- и d-элементов в металлоорганических пестицидах (Hg, As, Sn, Pb и др.).

Для очистки анализируемой пробы от белков, липидов, углеводов используют разные методики. Например, проводят жидкостную экстракцию (н-гексан — диметилформамид) при определении фосфорорганических соединений, хлорорганических пестицидов и пиретроидов.

Применяется также колоночная адсорбционная и распределительная хроматография на фторосиле (синтетическом силикате магния),  $Al_2O_3$ , силикагеле. Препаративная ТСХ на силикагеле  $Al_2O_3$  используется при определении фосфорорганических соединений и пиретроидов.

Если проводится пробоподготовка перед определением пестицидов, устойчивых к кислотному гидролизу (ДДТ, гептахлор), то для омыления балластных веществ применяют сульфирование, обрабатывая пробу серной кислотой.

В качестве частных приемов можно использовать осаждение липидов при охлаждении, высаливание белков с применением трихлоруксусной кислоты, солей цинка ( $ZnCl_2$ ,  $ZnSO_4$ ).

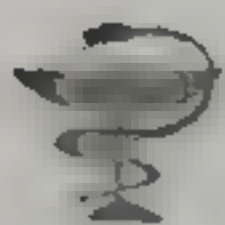
Для определения пестицидов в биологических материалах используют различные методы анализа, характеризующиеся различными значениями нижних пределов обнаружения и количественной оценки (табл. 22.2).

Таблица 22.2

Методы анализа биологических материалов  
при определении пестицидов

Метод	Предел обнаружения
Биологические методы (биологические модели, например мухи-дрозофилы)	—
Биохимические	Для ФОС — $10^{-4}$ г





Продолжение табл. 22.2

Метод	Предел обнаружения
Иммуноферментные	$10^{-6}-10^{-7}$ г
Химические, в том числе микрокристаллоскопические	$10^{-6}$ г
Фотометрические в ультрафиолетовой и видимой области	$10^{-4}-10^{-7}$ г
Хроматографические методы:	
— ТСХ	$10^{-6}$ г
— ВЭЖХ, УФ-детектор (для нелетучих пестицидов)	$10^{-4}$ г
— ГЖХ с детекторами:	
• плазменно-ионизационным	$10^{-9}-10^{-12}$ г
• электронно-захватным	$^{43}\text{Ni } 10^{-14}$ г
• термоионным	$10^{-11}$ г
• масс-спектрометрическим (с ионизационным электронным ударом)	$10^{-6}-10^{-9}$ г

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Соотнесите понятия, например 1-а, 2-с, 3-д.

1. Для каждой группы пестицидов найдите применение:

Группа	Назначение группы
1. Зооциды	а) для борьбы с болезнями растений
2. Фунгициды	б) для уничтожения сорных растений
3. Гербициды	с) для борьбы с грызунами
4. Инсектициды	д) для борьбы с некоторыми насекомыми-переносчиками болезней
5. Нематоциды	е) для удаления листьев растений
6. Дефолианты	ф) для борьбы с круглыми червями
7. Акарициды	г) для уничтожения клещей





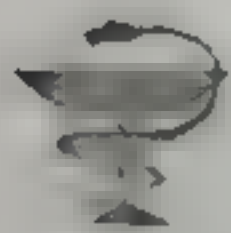
2. Для каждой группы пестицидов найдите соответствующих представителей:

Группа	Представители
1. Неорганические соединения	a) метафос b) арсениты
2. Органические соединения	c) дикват d) органические соединения ртути
3. Металлоорганические соединения	e) гептахлор f) арсенаты
4. Органические соединения фосфора	g) карбофос h) фоксим
5. Пиретроиды	i) органические соединения олова j) перметрин k) паракват l) дельтаметриф m) фенвалерат n) карбарил o) соли меди

3. Для каждой группы пестицидов найдите соответствующих представителей:

Группа	Представители
1. Хлорорганические соединения	a) аквалин
2. Антихолинэстеразные препараты	b) диоксин
3. Фосфорорганические соединения	c) арборол
4. Эфиры карбаминовой кислоты	d) дихлофос
5. Производные бипиридила	e) байтекс
6. Нитросоединения	f) дельтаметрин
7. Пиретроиды	g) гексахлоран h) карбарил i) паракват j) дикват k) фоксим l) перметрин





Выберите один или несколько правильных ответов

4. К малотоксичным пестицидам относятся пестициды,  $DL_{50}$  которых составляет:

- a) 50 мг/кг;
- b) 200 мг/кг;
- c) 500–700 мг/кг;
- d) свыше 1000 мг/кг;
- e) свыше 2000 мг/кг.

5. Укажите основные характеристики ДДТ:

- a) инсектицид;
- b) гербицид;
- c) липофильный;
- d) гидрофильный;
- e) высокотоксичное вещество;
- f) малотоксичное вещество.

6. Отметьте возможные механизмы токсического действия ДДТ:

- a) снижает транспорт калия через мембрану;
- b) мешает активному транспорту натрия из аксона во время реполяризации;
- c) ингибирует аденозинтрифосфатазу (АТФазу) нейронов;
- d) ингибирует ацетилхолинэстеразу;
- e) ингибирует кальмодулин.

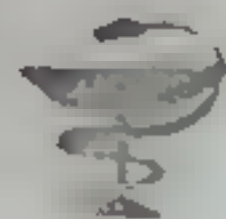
7. Линдан характеризуется следующими свойствами:

- a) хлорорганический фунгицид;
- b) хлорорганический инсектицид;
- c) биотрансформация линдана включает одну стадию;
- d) биотрансформация линдана включает несколько стадий;
- e) линданом пропитывают дерево в целях защиты от возгорания.

8. Из приведенных утверждений к диоксину можно отнести следующие:

- a) высокотоксичное соединение;
- b) особо токсичное соединение;
- c) высокая липофильность;





- d) устойчив в течение 7–9 лет;
- e) выводится в течение 24 мес.

9. Укажите метод, с помощью которого можно идентифицировать все хлорорганические пестициды:

- a) ГЖХ;
- b) УФ-спектрофотометрия;
- c) ГХ-МС;
- d) ТСХ;
- e) ВЭЖХ.

10. Верно ли следующее утверждение:

— карбаматные инсектициды являются обратимыми ингибиторами ацетилхолинэстеразы нервной ткани.

- a) верно;
- b) неверно.

11. Верно ли следующее утверждение:

— фосфорорганические соединения необратимо ингибируют ацетилхолинэстеразу.

- a) верно;
- b) неверно.

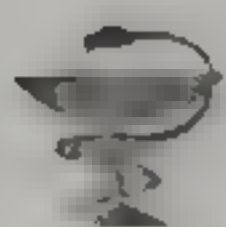
12. Какие из приведенных утверждений являются правильными в отношении севина:

- a) необратимо ингибирует ацетилхолинэстеразу;
- b) обратимо ингибирует ацетилхолинэстеразу;
- c) ингибирует кальмодулин;
- d) является эфиром карбаминовой кислоты;
- e) является эфиром фосфорной кислоты;
- f) проявляет инсектицидные свойства.

13. Какие из приведенных утверждений верны по отношению к малатиону:

- a) необратимо ингибирует ацетилхолинэстеразу;
- b) обратимо ингибирует ацетилхолинэстеразу;
- c) ингибирует гидролиз ацетилхолина;
- d) является эфиром карбаминовой кислоты;
- e) является эфиром фосфорной кислоты;
- f) проявляет инсектицидные свойства.





14. Холинэстеразу способны ингибировать пестициды из класса:

- a) фенолов;
- b) металлоорганических соединений;
- c) галогенсодержащих соединений;
- d) производных карбаминовой кислоты;
- e) производных фосфорной кислоты.

15. В качестве антидотов при отравлениях антихолинэстеразными препаратами применяют:

- a) атропина сульфат;
- b) налтрексон;
- c) унитиол;
- d) диэтиксим;
- e) меркаптамин.

16. Название пестицида, который является преимущественно специфическим легочным токсикантом:

- a) дикват;
- b) карбарил;
- c) паракват;
- d) ДДТ;
- e) метафос.

17. К контактными ядам относятся:

- a) хлорофос;
- b) дикват;
- c) карбарил;
- d) пиретроиды;
- e) линдан.

18. Для каких соединений на этапе пробоподготовки можно использовать перегонку с водяным паром:

- a) пиретроиды;
- b) фосфорорганические соединения;
- c) хлорсодержащие пестициды;
- d) нитросоединения.

19. П...  
подготов...

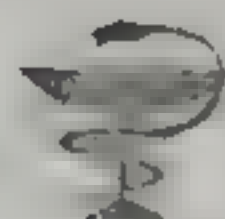
- a) фос...
- b) хло...
- c) пир...
- d) нит...
- e) про...

У П. Л

Вопросы

1. Пес...
- применени...
2. Как...
- бы его зар...
- дят испыт...
3. Укаж...
4. В чем...
- чества пест...
5. Клас...
- лей, на кот...
- пестицидов...
6. Хими...
- меры.
7. Как...
- ниям? Меха...
- тицидов на...
8. Особе...
- дами. Прив...
- пестицидов...
9. Пести...
- тов. Меха...
10. Фосф...
- кислоты. Ос...
- бенности ХТ...
11. Прог...
- ние, симпто...
12. Нитр...
- трансформ...





19. Препаративная ТСХ на силикагеле на этапе пробоподготовки может быть использована при анализе:

- а) фосфорорганических соединений;
- б) хлорорганических соединений;
- в) пиретроидов;
- г) нитросоединений;
- д) производных бипиридила.

## V II. Лабораторно-практическое занятие

### Вопросы для участия на занятии

1. Пестициды. Определение. Как осуществляют контроль применения пестицидов в разных странах?

2. Каким требованиям должен удовлетворять пестицид, чтобы его зарегистрировали? На каких моделях животных проводят испытания по определению токсичности пестицидов?

3. Укажите способы предотвращения отравления пестицидами.

4. В чем заключается разница в терминах: «остаточные количества пестицидов» и «допустимая остаточная концентрация»?

5. Классификация пестицидов по видам организмов вредителей, на которые они воздействуют. Токсическая классификация пестицидов.

6. Химическая классификация пестицидов. Приведите примеры.

7. Какие пестициды относятся к хлорорганическим соединениям? Механизмы токсического действия хлорорганических пестицидов на примере ДДТ.

8. Особенности интоксикаций хлорорганическими пестицидами. Приведите методику проведения ХТА хлорорганических пестицидов.

9. Пестициды — представители антихолинэстеразных препаратов. Механизм действия. Реакции ингибирования холинэстеразы.

10. Фосфорорганические соединения и эфиры карбаминной кислоты. Основные представители. Признаки отравления. Особенности ХТА.

11. Производные бипиридила: паракват, дикват. Применение, симптомы отравления.

12. Нитросоединения. Приведите возможные реакции биотрансформации.





13. Пиретроиды. В чем состоит отличие данной группы пестицидов от рассмотренных ранее?

14. Определение пестицидов в биоматериалах. Способы пробоподготовки. Основные методы анализа.

**Задание 1.** Приведите названия трех препаратов, применяющихся для защиты от насекомых, грызунов, борьбы с вредителями сельскохозяйственных растений и т.д. Выясните, какое химическое соединение является действующим веществом в данном препарате. Приведите структурную химическую формулу и возможный механизм токсического действия.

**Задание 2.** Заполните таблицу (для 6 препаратов пестицидов):

Препарат	Действующее вещество (структурная формула), класс пестицидов	Механизм токсического действия, токсические дозы	Клинические признаки отравления, возможные антидоты	Особенности проведения ХТА
1. ...				
...				
6. ...				

Расположите препараты в порядке увеличения их токсичности для человека. В соответствии с классификацией пестицидов по токсичности отнесите данные пестициды к соответствующим классам токсичности.

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 340–358.
3. Федеральный закон от 19.07.97. № 109-ФЗ «О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами».
4. Юлдашев З.А., Попков В.А. Химико-токсикологическое исследование синтетических пиретроидов. — Изд-во Ташкентский ун-т, 2006. — 226 с.



# ЗАНЯТИЕ 23

## ВЕЩЕСТВА, ИЗОЛИРУЕМЫЕ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА МИНЕРАЛИЗАЦИЕЙ. МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ ЯДЫ

---

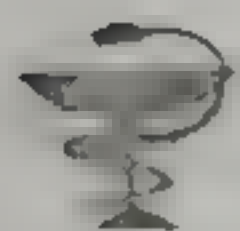
### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар.
- III. Лабораторная работа «Идентификация металлических ядов в биологических материалах и вещественных доказательствах».

### *Целевые задачи*

- ознакомиться с классификациями металлических ядов в соответствии с их положением в Периодической системе элементов, содержанием в организме и биологической ролью;
- изучить механизмы токсичности отдельных представителей металлических ядов;
- проанализировать особенности способов минерализации биологических материалов перед определением «металлических» ядов;
- обсудить особенности химико-токсикологического анализа металлических ядов.





## Краткое теоретическое введение

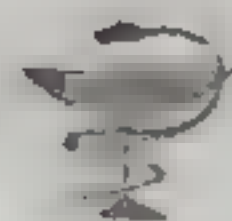
Определение металлических ядов (истинных металлов — например, ртути, свинца, кадмия, и амфотерных элементов — например, мышьяка, сурьмы, висмута) в биообъектах и вещественных доказательствах проводят в химических лабораториях токсикологических центров клинических больниц и Бюро судебно-медицинских экспертиз. Как правило, эти лаборатории снабжены современным аналитическим оборудованием. Для определения металлических ядов чаще всего используют методы атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) в пламени или с электротермической атомизацией, атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии (АЭС-ИСП-МС) и некоторые другие. В качестве примеров в приложениях 23.1 и 23.2 приведены химико-токсикологические характеристики и описания методик определения ртути и таллия в биологических материалах при отравлениях.

Определению токсичных элементов предшествует минерализация органической составляющей биологических материалов.

Необходимость минерализации биологических проб объясняется тем, что металлические яды находятся в организме не в ионной форме, удобной для определения, а связаны полярными и неполярными ковалентными связями с лигандными атомами нативных соединений (аминокислот, пептидов, белков, углеводов, нуклеиновых кислот и других биологически активных соединений). В связи с этим собственно анализу биопробы предшествует ее минерализация, заключающаяся в разрушении органических соединений, с которыми связаны определяемые элементы. Таким образом, в результате минерализации органическая матрица будет переведена в летучие оксиды, а определяемые элементы окажутся в водном растворе в ионной форме.

При исследовании биологического материала на присутствие металлических ядов анализу подвергают органы трупов (печень, почки, желудок с содержимым, волосы, кожу), биологические жидкости (плазму или сыворотку крови,





кровь, мочу, ликвор), напитки, остатки пищи, пищевые продукты, растения и другие объекты. В зависимости от токсической дозы, интервала времени между отравлением и отбором пробы, видом анализируемого материала и используемой методикой анализа количество биоматериала, взятого на анализ, колеблется в широком интервале: от нескольких миллиграммов до сотни граммов.

Классификация методов минерализации позволяет разделить их на две группы: сухую и мокрую минерализацию. Сухая минерализация заключается в озолении, осторожном сжигании биопробы при высоких температурах (300—400 °C) в присутствии кислорода, т.е. при доступе воздуха. Мокрая минерализация — это окисление органической матрицы веществами-окислителями в водном растворе. При минерализации в растворе веществами-окислителями обязательно проводят «холостой» опыт, в котором все реагенты используют в тех же количествах и на тех же этапах пробоподготовки, что и при минерализации биологического материала.

При озолении биоматериалов может происходить потеря некоторых определяемых элементов, например цинка, кадмия, таллия, ртути, в связи с высокой летучестью их хлоридов. Потери определяемых элементов возможны также из-за взаимодействия с материалом используемых тиглей (фарфор, кварц).

При мокром озолении применяют кислоты-окислители ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$ ), соли ( $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{KClO}_3$ ), а также пероксид водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Высокотемпературная окислительная деструкция органических компонентов с использованием веществ-окислителей или их смесей приводит к образованию ионных форм определяемых элементов.

Достижения последних лет, связанные с совершенствованием методик минерализации, показали эффективность применения автоклавов и микроволнового излучения. Проведение минерализации в автоклаве позволяет использовать еще один параметр, способствующий минерализации биоматериала, — высокое давление. Давление в системе создается за счет газообразных веществ, выделяющихся при окислительно-восстановительных реакциях. Такие тефлоновые автоклавы, помещенные в микроволновые печи или электропечи





с высокой температурой, обеспечивают полную сохранность металлических ядов, т. к. контакт пробы с окружающей средой осуществляется после полного остывания системы.

Некоторые методики, например с использованием метода АЭС-ИСП, позволяют вводить жидкую биологическую пробу — мочу, плазму или сыворотку крови, кровь — без разрушения органической матрицы, предварительно разведя ее раствором соляной кислоты.

Примеры, описывающие минерализацию разных биологических материалов и объектов окружающей среды, приведены в приложении 23.3.

При судебно-медицинском исследовании трупа и вещественных доказательств в некоторых случаях могут быть проведены исследования, не требующие специального оборудования. Большинство из этих подходов прошли испытание временем и используются в практике судебно-медицинской экспертизы десятки лет. Такие исследования просты в исполнении и требуют лишь ограниченного количества реактивов. Их применяют для открытия солей ртути, мышьяка, сурьмы, висмута и других элементов. Например, проба на ртуть (проба Рейша) заключается в следующем. Содержимое желудка или рвотные массы помещают в небольшой сосуд и подкисляют соляной кислотой. В полученную смесь опускают чистую медную пластинку и подогревают. Присутствие ртути доказывают по серому налету ртути на медной пластинке. При этом протекает реакция:  $\text{Cu}^0 + \text{Hg}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^{2+} + \text{Hg}^0$ . На поверхности медной пластинки образуется пленка ртути. В присутствии солей ртути медная пластинка, проволока (или медная монета), помещенные на слизистую желудка или разрезанную печень, покрываются серебристым налетом металлической ртути.

При отравлении «белым мышьяком» ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ) возможно проведение пробы Берцелиуса. В запаянную с одного конца трубку из тугоплавкого стекла с оттянутым узким слепым концом помещают 1–2 найденные крупинки  $\text{As}_2\text{O}_3$  и сверху вводят уголек (обугленную палочку или спичку), который должен плотно входить в узкий конец трубки. Трубку в том месте, где помещается уголек, накаливают на спиртовке так, чтобы уголек раскалился докрасна, затем нагревают дно труб-





ки с крупинками. Пары  $\text{As}_2\text{O}_3$  при прохождении через раскаленный уголек восстанавливаются до элементного мышьяка:  $2\text{As}_2\text{O}_3 + 3\text{C} \xrightarrow{\text{TC}} 4\text{As} + 3\text{CO}_2$ . На холодных частях трубки образуется зеркальный налет элементного мышьяка.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

1. Среди перечисленных элементов укажите жизненно необходимые макроэлементы:

- a) водород;
- b) кальций;
- c) железо;
- d) хром;
- e) азот.

2. Среди перечисленных элементов укажите жизненно необходимые микроэлементы:

- a) хром;
- b) железо;
- c) сера;
- d) кобальт;
- e) цинк.

3. Укажите условно необходимые элементы:

- a) алюминий;
- b) молибден;
- c) марганец;
- d) хром;
- e) натрий.

4. Гипермикроэлементоз, обусловленный избыточным содержанием свинца, называют:

- a) сатурнизмом;
- b) меркуриализмом;
- c) эндемической нефропатией;
- d) эндемической подагрой;
- e) флюорозом.





5. Методы, используемые для исследования металлоидов:

- a) ЭПР (электронный парамагнитный резонанс);
- b) АЭС-ИСП-МС (атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрией);
- c) ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография);
- d) ААС (атомно-абсорбционная спектрометрия);
- e) ЯМР (ядерно-магнитный резонанс).

6. Для проведения ХТА при остром отравлении соединениями металлов могут быть использованы:

- a) волосы;
- b) кровь;
- c) моча;
- d) слюна;
- e) рвотные массы.

7. Гликопротеин, который связывает большую часть железа (III), присутствующего в организме, называется:

- a) трансферрин;
- b) ферритин;
- c) церулоплазмин.

8. При хроническом отравлении свинец преимущественно депонируется в:

- a) печени;
- b) почках;
- c) мышечной ткани;
- d) костной ткани;
- e) сальнике.

9. Укажите основной орган-мишень хронического токсического воздействия кадмия:

- a) печень;
- b) почки;
- c) ЖКТ;
- d) легкие;
- e) щитовидная железа.

10.

- a) с
- b) у
- c) а
- d) у

жащим

11.

скими я

- a) на
- b) ме
- c) ЭД
- d) ун
- e) ат

12.

лыми ме

- a) им
- b) реа
- c) адс
- d) обр

V II. С

Вопросы

1. По н  
можно раз  
мые, токси  
ре; равнове  
вом и нежн

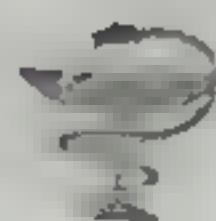
2. На п  
биогеохими  
жающей ср

3. Почеч  
мут, герман

4. На гра  
лического я

5. Каков  
примесных





10. Токсичность меди связана со следующими свойствами:

- a) сродство ионов меди к тиоловым группам белков;
- b) участие в окислительно-восстановительных реакциях;
- c) антагонизм с ионами кальция в биосредах;
- d) участие в реакциях комплексообразования с азотсодержащими лигандами.

11. В качестве антидотов при отравлении металлическими ядами можно использовать:

- a) налтрексон;
- b) метиленовый синий;
- c) ЭДТА;
- d) унитиол;
- e) атропина сульфат.

12. Антидотное действие ЭДТА при отравлении тяжелыми металлами проявляется в результате:

- a) иммунной реакции;
- b) реактивации ацетилхолинэстеразы;
- c) адсорбции;
- d) образования хелатного комплекса.

## V II. Семинар

### Вопросы для обсуждения на семинаре

1. По каким параметрам элементы Периодической системы можно разделить на жизненно необходимые, условно необходимые, токсичные? Учение академика В.И. Вернадского о биосфере; равновесия микро- и макроэлементов между живым веществом и неживой материей. Приведите примеры.

2. На примере одного из *s*-, *p*- или *d*-элемента опишите его биогеохимический цикл (возможные равновесия между окружающей средой и биотой).

3. Почему амфотерные *p*-элементы — мышьяк, сурьму, висмут, германий, таллий — относят к группе металлических ядов?

4. На графике зависимости «доза — ответ (гибель)» для металлического яда выделите области нормы, дефицита, токсичности.

5. Каковы различия во влиянии на организм необходимых и примесных элементов?





6. Как можно объяснить разное содержание примесных элементов в организме жителей сельского и промышленного регионов? Какие факторы вызывают накопление элементов в организме человека? Приведите примеры природных и техногенных гипермикроэлементозов.

7. Проведите аналогию между понятиями «геном» и «протеом», с одной стороны, и терминами «металл» и «металлопротеом» — с другой.

8. Охарактеризуйте отдельные этапы исследования металлопротеома на примере селенопротеома.

9. Приведите примеры механизмов токсичности металлических ядов на ионно-молекулярном и клеточном уровнях. Каково влияние химической формы элемента на его токсичность? Опишите механизмы транспорта токсичных форм (диффузия, активный транспорт, эндоцитоз).

10. Укажите основные мишени токсического воздействия различных металлов.

11. Перечислите основные источники поступления свинца в организм.

12. Охарактеризуйте мишени токсичности соединений свинца и механизмы этих воздействий. Перечислите основные признаки отравления соединениями свинцом.

13. Какие химические формы ртути представляют наибольшую опасность для человека? Назовите основные источники поступления ртути в организм. Каковы клинические признаки отравления соединениями ртути?

14. Опишите механизмы токсического действия кадмия. Как проводят ХТА при подозрении на отравление кадмием?

15. Назовите основные источники поступления таллия в организм. Каковы клинические признаки отравления соединениями таллия?

16. Укажите основные источники поступления в организм соединений мышьяка. Какие факторы влияют на механизмы токсического действия соединений мышьяка.

17. Могут ли жизненно необходимые *d*-элементы — медь, железо и цинк — оказывать токсическое действие? Приведите конкретные примеры.

18. Какие химические формы условно необходимых *d*-элементов — хрома и никеля — проявляют наибольшую токсичность?

19. Опишите возможные механизмы токсичности алюминия.





20. Опишите возможные механизмы токсичности лития.

21. Способы оказания помощи при отравлении металлическими ядами. Какие antidotes и на какой стадии отравления целесообразно применять?

22. Охарактеризуйте физические и физико-химические методы анализа, применяемые для идентификации металлических ядов.

23. Каковы особенности пробоподготовки биопроб для анализа при отравлении неорганическими соединениями?

### Работа с карточками индивидуального задания

*1. Пользуясь приложением 23.2 и дополнительной литературой, подготовьте ответы на вопросы по токсичности таллия*

**Причины отравлений.** Проблема таллиевых токсикозов — реальность или преувеличение? Перечислите токсичные соединения таллия и область их применения. Почему запретили применение соединений таллия в медицине? Сравните значения  $DL_{50}$  и  $DE_{50}$  для таллия сульфата. Какие пестициды на основе таллия известны? Что такое таллиевый родентицид, фунгицид? Применяются ли они в настоящее время? Что такое галиды таллия, где они используются? Где применяется амальгама таллия? Какова температура ее кристаллизации? Почему возможны отравления таллием при производстве цемента? Как может произойти отравление таллием при приеме кокаина наркоманом? Возможно ли загрязнение соединениями таллия неконтролируемых по качеству БАД? Какие еще причины отравления таллием и его соединениями известны?

**Молекулярно-ионные механизмы токсичности.** Опишите механизмы токсичности соединений таллия с разной степенью окисления металла. В каких случаях он проявляет токсичность, связанную с окислительно-восстановительными превращениями? Приведите значения соответствующих редокс-потенциалов. Почему ион таллия  $Tl^+$  считают аналогом катиона калия? Почему  $Tl^+$  накапливается в клетке? Сравните скорости накопления двух ионов. Почему  $Tl^+$  относится к тиоловым ядам? Сравните значения  $K_{пр\ Tl_2S}$  и  $K_{пр\ Ag_2S}$ . С каким элементом — таллием или серебром — химическая связь с серой прочнее? Почему снижение уровня  $Ca^{2+}$  в крови может использо-





ваться как дополнительный диагностический показатель отравления соединениями таллия? Какие еще малорастворимые соединения таллия могут образовываться в организме? Прогнозируйте возможные результаты такого связывания.

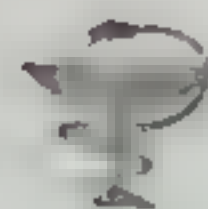
**Токсические дозы.** Почему летальная доза сульфата таллия для человека характеризуется интервалом значений, а не представлена конкретной цифрой? Если считать, что смертельные дозы таллия сульфата и таллия ацетата равны 8 мг/кг, то как эти дозы будут соотноситься в моль/кг. Прокомментируйте совпадение или различие. На основании справочных данных по растворимости карбоната, хлорида и сульфата таллия сделайте предположение о их токсичности, приведите соответствующее численное подтверждение, используя данные для лабораторных животных.

**Токсико-кинетические характеристики.** Приведите значение периода полувыведения таллия из организма. Прокомментируйте важность этого значения при лечении таллиевых отравлений. Рассчитайте объем распределения для разных значений периода полувыведения. О чем свидетельствуют эти значения? Почему объем распределения называется «кажущимся»? Дайте подробный комментарий по кинетике распределения и выведения радиоактивного таллия у больной остеогенной саркомой, которая была обречена на смерть.

**Содержание таллия в биоматериалах при отравлении.** Внимательно рассмотрите таблицу, где представлены результаты определения содержания таллия в жидкостях и тканях человека. Постройте графики ранжирования содержания таллия: а) в суточной моче, б) в крови. Прокомментируйте оба графика сначала по отдельности, а затем сопоставив эти значения. Почему кровь нецелесообразно использовать в качестве биоиндикатора при таллиевых отравлениях?

**Клиническая картина отравлений.** Пользуясь токсико-кинетической кривой, укажите признаки отравления соединениями таллия для каждого периода отравления, начиная со скрытого периода. Укажите на графике длительность каждого периода. Перечислите органы-мишени. Каковы клинические мероприятия при детоксикации?





**Антидотная терапия.** Приведите все возможные антидоты, используемые при отравлении таллием и его соединениями. Запишите химические реакции его связывания.

**Методы анализа.** Пользуясь сводной таблицей, дайте характеристику методов анализа биологических материалов и объектов окружающей среды при определении таллия. Обратите внимание на валидационные характеристики перечисленных методов.

*2. Пользуясь приложением 23.1 и дополнительной литературой, подготовьте ответы на вопросы по токсичности ртути по той же схеме, что и для соединений таллия*

### **V III. Лабораторная работа «Идентификация металлических ядов в биологических материалах и вещественных доказательствах»**

**Предварительные испытания мочи, содержимого желудка, остатков пищи, напитков и других вещественных доказательств с места происшествия при отравлении соединениями металлов**

**1. Проба Рейнша** — идентификация в биопробах и вещественных доказательствах ртути, сурьмы, мышьяка, висмута и других металлических ядов, восстанавливаемых металлической медью до элементного состояния.

**Методика определения.** Непосредственно перед использованием очистите медную проволоку/пластинку в азотной кислоте до тех пор, пока поверхность меди не станет блестящей (удаление оксидов меди). Промойте медную проволоку/пластинку дистиллированной водой.

Поместите проволоку/пластинку в коническую колбу объемом 100 мл, внесите в колбу 20 г исследуемой пробы и 10 мл концентрированной соляной кислоты. Нагревайте смесь на кипящей водяной бане в вытяжном шкафу в течение часа.





Поддерживайте постоянным объем раствора, добавляя по мере необходимости разбавленную соляную кислоту. Охладите и осторожно промойте медную проволоку/пластинку дистиллированной водой.

Медная проволока/пластинка в зависимости от природы яда окрашивается в серебристый (ртуть), пурпурно-черный (сурьма), матовый черный (мышьяк), черный с металлическим блеском (висмут).

Пользуясь значениями стандартных окислительно-восстановительных потенциалов, докажите возможность протекания реакции  $\text{Cu}^0 + \text{Hg}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^{2+} + \text{Hg}^0$ . Какие еще токсичные ионы могут участвовать в реакции  $z\text{Cu}^0 + 2\text{Э}^{z+} \rightarrow z\text{Cu}^{2+} + 2\text{Э}^0$ ? Катионные или анионные формы мышьяка, сурьмы, висмута вступают в реакцию с металлической медью?

## 2. Идентификация в биопробах и вещественных доказательствах с места происхождения соединений ртути (соли $\text{Hg}^{2+}$ )

Соединения ртути применяют в производстве термометров, красок, ламп, фунгицидов, при получении хлора, извлечении золота из руд. Смертельная доза сулемы ( $\text{HgCl}_2$ ) для человека около 1 г. Для суицидных целей используют не только соединения ртути, но и металлическую ртуть (см. приложение 23.1).

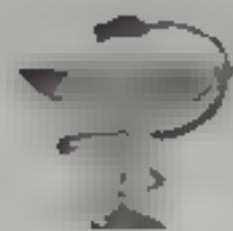
## 3. Реакция с суспензией йодида меди (I)

**Приготовление реактива.** Растворите 5,0 г сульфата меди (II) и 3,0 г сульфата железа (III) в 10 мл дистиллированной воды при непрерывном перемешивании, добавьте раствор йодида калия (7,0 г в 50 мл воды). После выпадения осадка йодида меди (I) его отфильтруйте и промойте водой. Отделенный осадок перенесите в виде суспензии во флакон коричневого стекла, используя небольшое количество воды. Полученная суспензия достаточно стабильна.

**Методика определения.** Поместите 0,1 мл суспензии йодида меди (I) на фильтровальную бумагу. Сверху нанесите каплю исследуемого раствора. Образование кирпично-красного окрашивания свидетельствует о присутствии в анализируемой пробе ртути.

*Приведите уравнение реакции и структуру образующегося комплексного соединения.*





#### 4. Реакция с дитизоном

**Методика определения.** В пробирку добавьте 1–2 мл исследуемого раствора и 0,5 мл раствора дитизона в хлороформе. Энергично встряхивайте пробирку и оставьте на 5–10 минут. Наблюдайте изменение окраски органического слоя, содержащего дитизон.

В присутствии ртути (II) образуется сине-фиолетовое окрашивание, переходящее в синее. Реакцию можно провести на фильтровальной бумаге: на бумагу наносят каплю исследуемого вещества и каплю раствора дитизона. Образуется фиолетово-синее пятно.

Реакция неспецифична, окрашенные комплексы дают и другие тяжелые металлы.

*Приведите уравнение реакции и структуру образующегося комплексного соединения.*

#### 5. Идентификация в биопробах и вещественных доказательствах с места происхождения соединений висмута (соли $\text{Bi}^{3+}$ )

Соли висмута применяют для лечения желудочно-кишечного тракта (гастрит, пептическая язва и др.). Соединения висмута применяют в производстве красителей и сплавов.

#### 6. Реакция с дитизоном

Проба проводится аналогично тому, как описано для ртути.

В присутствии соединений висмута наблюдается изменение цвета органической фазы от сиреневого, постепенно переходящего в коричнево-сиреневый.

Реакцию можно провести капельным методом на фильтровальной бумаге, как описано для ртути.

Реакция неспецифична, окрашенные комплексы дают и другие тяжелые металлы.

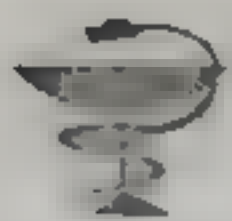
*Приведите структуру образующегося координационного соединения.*

#### 7. Реакция с калия йодидом

К 2 мл исследуемого раствора добавьте 1–2 капли 10%-ного р-ра калия йодида.

В присутствии соединений висмута образуется черное окрашивание ( $\text{BiI}_3$ ), переходящее в оранжево-красное соединение  $\text{BiOI}$ .





### 8. Реакция соосаждения с роданидом свинца

На предметное стекло поместите каплю исследуемого раствора, каплю 60% -ного роданида аммония и каплю 0,2 моль/л раствора нитрата свинца.

Постепенно образуется желто-оранжевый осадок (смесь  $\text{Pb}(\text{SCN})_2$  и  $\text{Pb}_3[\text{Bi}(\text{SCN})_6]_2$ ). При наблюдении под микроскопом (бинокуляром) видны пучки длинных остроконечных кристаллов на желтом фоне.

### 9. Идентификация свинца в содержимом желудка или остатков веществ с места происхождения

Соединения свинца содержатся в некоторых красках, аккумуляторах, строительных материалах, в моторном топливе в качестве детонатора.

**Методика определения.** К 0,1 мл анализируемого раствора добавьте 0,1 мл тартратного буфера ( $\text{pH} = 2,8$ ) и перемешайте в течение 5 с. Нанесите 50 мкл подкисленного раствора на фильтровальную бумагу и добавьте 50 мкл родизоната натрия. В присутствии солей свинца наблюдается пурпурное окрашивание. Тест неспецифичен: другие металлы тоже образуют окрашенные координационные соединения, например ион бария образует продукт коричневого цвета.

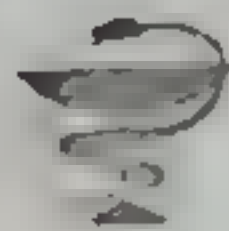
*Приведите уравнение реакции и структуру образующегося комплексного соединения.*

### 10. Идентификация в биопробах и вещественных доказательствах с места происхождения соединений железа (соли $\text{Fe}^{2+}$ и $\text{Fe}^{3+}$ )

Соли железа (II) применяют для лечения железодефицитной анемии. Для  $\text{FeSO}_4$   $\text{DL}_{\min}$  для человека около 30 г, для ребенка — около 1 г.

**Методика определения.** К капле (50 мкл) отфильтрованного содержимого желудка или жидких остатков с места происхождения добавьте 2 капли (100 мкл) р-ра соляной кислоты (2 моль/л) и каплю (50 мкл) водного р-ра калия гексацианоферрата (III) (10 г/л). Еще к одной порции образца объемом 50 мкл добавьте 2 капли (100 мкл) водной соляной кислоты (2 моль/л) и каплю (50 мкл) водного р-ра калия гексациано-





феррата (II) (10 г/л). Интенсивное синее окрашивание в обоих случаях свидетельствует о присутствии ионов  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ .

*Приведите уравнения реакций образования соли  $\text{KFeFe}(\text{CN})_6$ .*

### 11. Идентификация лития в остатках веществ с места происшествия

Карбонат и цитрат лития используют при лечении депрессии и шизофрении. Ежесуточное введение 2 г лития карбоната более 5–7 дней приводит к токсическим проявлениям.

**Методика определения.** Погрузите конец платиновой проволоки в концентрированную соляную кислоту (плотность 1,18 г/мл). Опустите влажный конец проволоки в анализируемый материал. Введите анализируемый материал в горячую часть пламени микрогорелки. В присутствии солей лития пламя приобретает малиново-красную окраску. Соли кальция и стронция (окрашивают пламя в красный цвет) и натрия (желтая окраска) мешают определению лития.

Количественное определение лития в моче и крови проводят методами ААС, АЭС-ИСП, потенциометрически с использованием ионселективного электрода.

### 12. Проведите сухое озоление растительных материалов — концентраторов токсичных металлов

В химическую лабораторию поступили пробы растений из зоны гальванического производства (процесс меднения), не имеющего замкнутой технологической схемы и нарушающего природоохранное законодательство (слив медьсодержащего электролита производится в почву вблизи предприятия). Проведите сухое озоление образцов крапивы и подорожника, собранных на расстоянии 100 м, 300 м и 1 км от предприятия для последующего анализа.

**Методика определения.** Точные навески растений (6 проб) измельчите и поместите в фарфоровые чашки, которые поставьте на нагретую песочную баню и высушите исследуемую пробу. Повысьте температуру песочной бани и наблюдайте обугливание растительного материала. Твердый остаток охладите, смочите концентрированным раствором  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и концентрированной  $\text{HNO}_3$ . Фарфоровую чашку поставьте на кипящую водяную баню и высушите ее содержимое. Оста-





ток перенесите в фарфоровый тигель вместимостью 30–50 мл и поместите в электропечь со строго контролируемой температурой (250–300 °C). При неполном сгорании органических веществ зола в тигле имеет черный или серый цвет. Тигель охладите, а к его содержимому добавьте раствор азотной кислоты для перевода оксида меди в ионную форму в растворе:  $\text{CuO} + 2\text{HNO}_3 \rightarrow \text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}$ . Полученный раствор проанализируйте методом атомной абсорбции, определите содержание меди. Проведите расчет содержания меди в крапиве и подорожнике. Постройте графики зависимости «содержание меди в растении — расстояние от места слива гальванического электролита».

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. С. 358–398.
3. Назаров Г.Н., Макаренко Т.Ф. Методы спектрального анализа в судебной медицине. — М.: МНПП «ЭСИ», 1994. — 360 с.
4. Основы аналитической токсикологии. — Женева: ВОЗ, 1997. — 364 с.
5. Микроэлементы в медицине. Текущее периодическое издание Российского общества элементологии / Под ред. А.В. Скального. — М., 2001—2008. — 216 с.
6. Научные труды VIII Международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке; концепции болезней цивилизации». — М.: РУДН, 2007. — С. 392.



# ЗАНЯТИЕ 24

## ЛЕТУЧИЕ ЯДЫ.

### 1. ГАЛОГЕНОПРОИЗВОДНЫЕ УГЛЕВОДОРОДОВ

---

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар.
- III. Лабораторная работа «Методы идентификации галогенопроизводных углеводов».

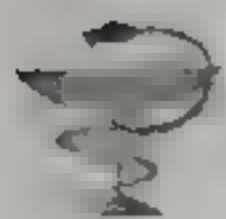
#### *Целевые задачи*

- познакомиться с классификацией ядов в соответствии с их летучестью и методом изолирования из биологического материала;
- изучить токсикологические характеристики летучих ядов — галогенопроизводных углеводов;
- изучить методы изолирования летучих ядов из биологических материалов и других вещественных доказательств;
- освоить методики идентификации летучих ядов;
- изучить методы количественного определения летучих ядов.

#### *Краткое теоретическое введение*

В судебно-химическом анализе к группе летучих ядов относят вещества, которые изолируют из биоматериала перегонкой с водяным паром. Этот метод выделения применяется





также в лабораторном и промышленном синтезе и в аналитической практике как метод разделения и очистки химических веществ. Дистилляция с водяным паром целесообразна при работе с летучими веществами, особенно если они разлагаются при температуре кипения.

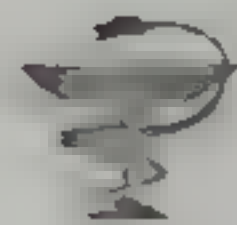
Имеются и другие подходы к классификации летучих ядов, основанные на физико-химических характеристиках химических веществ (см. Токсикологическая химия / Под ред. Т.В. Плетеневой, ч. 4, гл. 3.). Сам термин «летучие яды» предполагает сравнительно невысокую температуру кипения токсичного вещества. Поэтому к летучим ядам также могут быть отнесены все токсичные газы и легкокипящие (летучие) жидкости.

На лабораторно-практических занятиях по летучим ядам будут рассмотрены только некоторые из представителей этого класса токсикантов: 1) *галогенопроизводные углеводородов* (хлороформ, хлористый этилен, трихлорэтилен, тетрахлорметан, гексахлорэтан); 2) *кислородсодержащие органические соединения* (спирты, фенолы, карбонильные соединения, карбоновые кислоты); 3) *газообразные вещества* (цианид водорода, пары элементного фосфора, оксид углерода (II), сероуглерод, летучие гидриды р-элементов).

К летучим ядам относят также алкилпроизводные металлов (тетраэтилсвинец, алкильные производные ртути и мышьяка), гетероциклические азотсодержащие соединения, производные пиридина и пиперидина (никотин, анабазин, конииин, ареколин, пахикарпин), гетероциклические кислородсодержащие соединения (1,4-диоксан), нитро- и аминопроизводные аренов и гидроксиаренов (нитробензол, анилин, о-нитрофенол, м-нитрофенол, динитрофенолы). Некоторые из перечисленных веществ рассматриваются в других разделах Руководства (пестициды, металлы, наркотические и лекарственные вещества).

Возможность изолирования летучих ядов из биологических материалов методом перегонки с водяным паром имеет физико-химическое обоснование. При смешивании вещества, не растворимого в воде (несмешивающегося с водой), давление пара каждого из компонентов смеси будет таким же,





как и в случае, если бы второй компонент отсутствовал (II начало термодинамики, закон Рауля). При нагревании смеси давление пара каждого компонента растет независимо от давления пара другого компонента. Когда сумма парциальных давлений паров обоих веществ достигает атмосферного, смесь закипает, и оба вещества начинают перегоняться. Поэтому точка кипения смеси будет ниже, чем точки кипения отдельных веществ, ее составляющих (рис. 24.1).

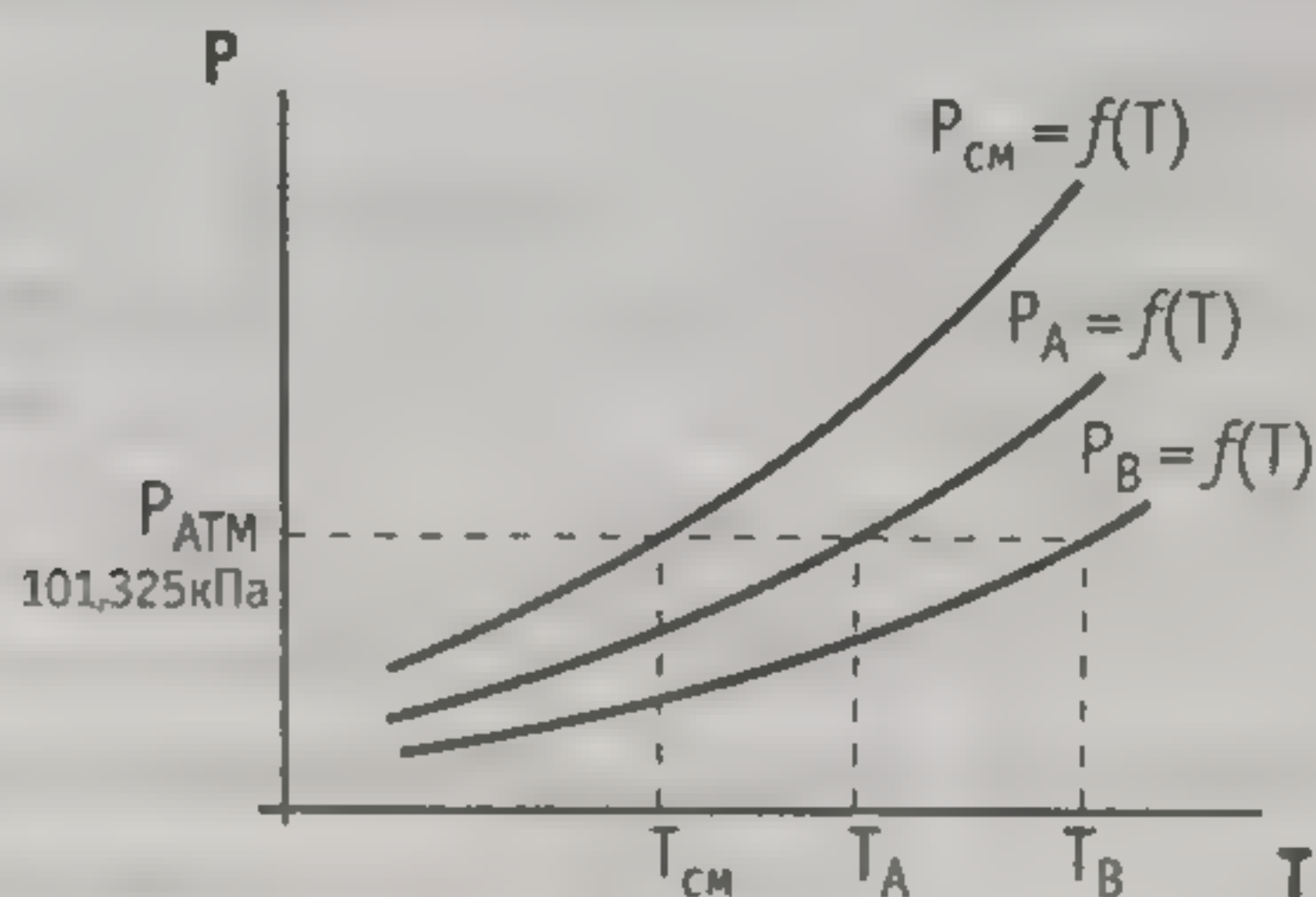


Рис. 24.1. Диаграмма состояния (P-T) для двух несмешивающихся жидкостей (А и Б) и их смеси

Между летучестью и молярной массой несмешивающихся веществ, подвергаемых перегонке, существует зависимость, которая выражается уравнением:

$$\frac{m_1}{m_2} = \frac{M_1 \cdot P_1}{M_2 \cdot P_2},$$

где  $m_1$  и  $m_2$  — массы данных веществ в дистилляте;

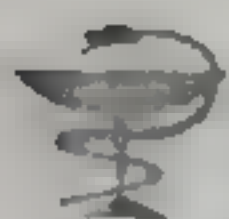
$M_1$  и  $M_2$  — их молярные массы;

$P_1$  и  $P_2$  — парциальные давления паров обоих компонентов.

К малорастворимым в воде веществам, также изолируемым из биоматериалов перегонкой с водяным паром, относятся низшие алифатические карбоновые кислоты, гидроксиарены (фенолы), низшие алифатические и ароматические амины и ряд других.

Многие вещества способны к образованию азеотропных смесей с водой, что обуславливает возможность их перегонки с водяным паром. Азеотропная, или нераздельно кипящая,





смесь — это однородная смесь веществ, состав которой совпадает с составом пара, находящегося с ней в равновесии, и, таким образом, не меняется в процессе дистилляции. Азеотропные смеси с водой образуют вещества, как мало- и труднорастворимые, так и хорошо растворимые в ней. Разделить азеотропные смеси простой или фракционной перегонкой не представляется возможным. Разделению может способствовать понижение или повышение давления при перегонке, применение химических методов, введение в смеси дополнительных компонентов.

Для дистилляции с водяным паром могут быть использованы разные установки, одна из которых приведена на рис. 24.2. Также применяют установки, снабженные водоотделителем (или брызгоуловителем), который расположен между парообразователем и колбой для перегонки.

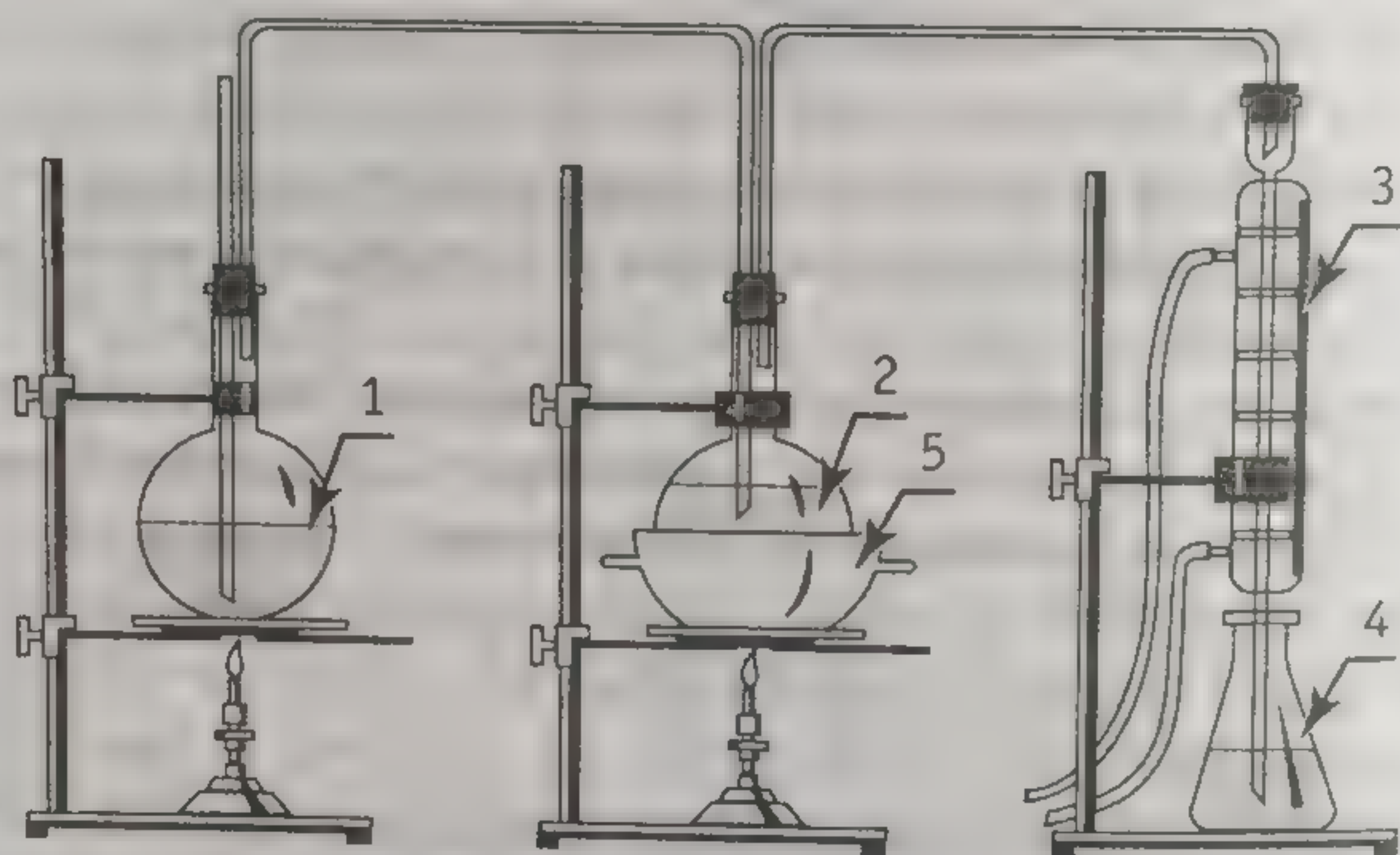


Рис. 24.2. Установка для перегонки с водяным паром:

- 1 — парообразователь; 2 — колба для перегонки; 3 — холодильник;  
4 — источники нагревания; 5 — водяная баня; 6 — приемник

*Методика дистилляции с водяным паром.* Парообразователь заполняют водой примерно на  $1/2$ – $1/3$  его внутреннего объема и нагревают, стараясь предотвращать выбрасывание воды наружу путем регулирования интенсивности нагрева.

Исследуемый объект (биожидкость или определенное количество мелкоизмельченной биологической ткани, смешан-





ной с водой) вносят в колбу для перегонки. Колба для перегонки должна быть заполнена содержимым на  $1/3-1/2$  ее внутреннего объема.

Подготовленную таким образом колбу с биологическим объектом помещают на нагретую водяную баню и доводят реакцию среды содержимого колбы до определенного значения pH. Отдельные части установки для дистилляции соединяют между собой. Последним этапом сборки установки является присоединение парообразователя, вода в котором предварительно нагрета до состояния кипения, к колбе для перегонки непосредственно или через брызгоуловитель. В дальнейшем осуществляют нагревание до кипения водяной бани и парообразователя.

Процесс дистилляции осуществляется достаточно медленно путем регулирования интенсивности нагревания. Завершая процесс дистилляции, колбу для перегонки отсоединяют от парообразователя и только после этого прекращают нагревание парообразователя и колбы для перегонки.

*Влияние pH среды на дистилляцию с водяным паром.* Перегонку с водяным паром химических соединений, обладающих кислотными свойствами, осуществляют из кислых сред, обладающих основными свойствами — из щелочных и частично из слабокислых сред, обладающих нейтральными свойствами — из кислых и щелочных сред. Имеются данные о том, что амфотерные соединения в наибольшей степени перегоняются при создании pH, соответствующего их изоэлектрической точке.

Подкисление биологического объекта, подготовленного для перегонки анализируемых веществ, может осуществляться как слабыми органическими, так и сильными минеральными кислотами.

Подкисление слабыми кислотами, в частности щавелевой или винно-каменной, обычно используют в случае необходимости предотвращения разложения лабильных соединений, как естественно образующихся в организме (например, конъюгатов фенольных структур с серной и глюкуроновой кислотами), так и попадающих извне (например, синильной кислоты или ее солей).





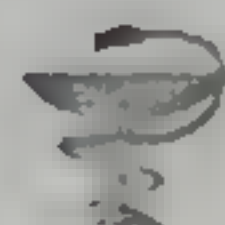
Подкисление сильными кислотами, в частности фосфорной и серной, используют при перегонке веществ, диссоциирующих в водной среде, например уксусной кислоты. Сильные кислоты для подкисления применяют при необходимости разрушения конъюгатов, являющихся естественными продуктами обмена, а также образующихся между отравляющими агентами или их метаболитами и рядом эндогенных кислот.

В результате подкисления подавляется диссоциация определяемого вещества, обеспечивается перевод его в молекулярную форму, что повышает степень его перегонки.

*Схема перегонки токсичных веществ из подкисленных биологических объектов* (масса объекта не более 100 г), в соответствии с которой первые 2–5 мл дистиллята собирают в приемник, содержащий 2–3 мл 2% -ного р-ра гидроксида натрия, погружив нижний конец аллонжа в поглощающий раствор. Вслед за этим собирают порции дистиллята (по 25 мл) в отдельные колбы. Количество таких порций обычно 1–2, но в случае когда в последней порции анализируемое вещество обнаруживается еще достаточно хорошо, продолжают собирать порции дистиллята до тех пор, пока в очередной порции исследуемое соединение найти не удастся. В первой порции дистиллята (объемом 2–5 мл) определяют синильную кислоту, в последующих (объемом 25 мл каждая) остальные вещества, способные перегоняться из кислых сред. Для ряда таких веществ определена примерная последовательность их перехода в дистиллят: желтый фосфор → диэтиловый эфир → трихлорметан → ацетон → низшие спирты → нитробензол → муравьиная и уксусная кислоты → хлоралгидрат → формальдегид → сероуглерод → салициловая кислота.

*Схема перегонки токсичных веществ из биологических объектов при подщелачивании.* Для осуществления перегонки токсичных вещества из биологических объектов при подщелачивании (в виде самостоятельного процесса или после предварительной отгонки из этих же объектов токсичных веществ, перегоняющихся из кислых сред) дистиллят собирают в виде отдельных порций объемом приблизительно 15 мл





в колбы, содержащие разбавленный раствор минеральной кислоты. Из щелочных сред извлекают такие органические основания, как анилин, пиридин, конин, анабазин, эфедрин, фенамин, и ряд соединений нейтрального характера.

Изолирование летучих веществ, находящихся в биологическом материале, содержимом желудка, пищевых продуктах, проводят методом микродиффузии. При этом в закрытой системе происходит переход молекул летучего вещества через газовую фазу из камеры с высоким его содержанием (жидкая фаза 1) в камеру с низким его содержанием (жидкая фаза 2). В соответствии с законом Рауля процесс будет продолжаться до выравнивания концентраций определяемого вещества в жидких фазах. При этом выравниваются и значения давления пара летучего вещества над обеими камерами (рис. 24.3).

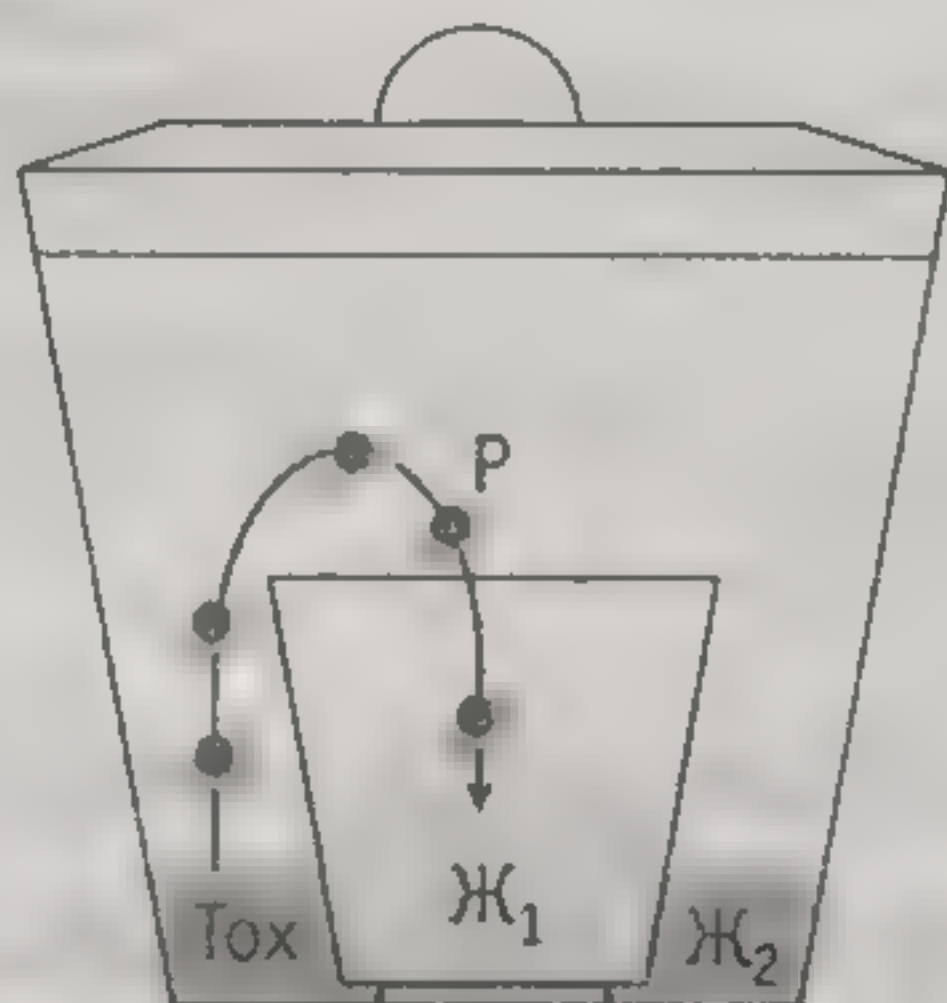


Рис. 24.3. Микродиффузия молекул летучего яда (Tox) из вытесняющей жидкости ( $Ж_1$ ) в абсорбирующую жидкость ( $Ж_2$ ) через газовую фазу до выравнивания давления и концентрации в системе

Каждую камеру необходимо заполнить соответствующим вытесняющим ( $Ж_1$ ) и абсорбирующим ( $Ж_2$ ) агентом (табл. 24.1). При этом летучее вещество будет перемещаться из одной камеры в другую до достижения постоянного давления  $P$  в рассматриваемой закрытой системе.

Методом микродиффузии можно изолировать ацетальдегид, ацетон, этанол, метанол, изопропанол, фенол, толуол и другие летучие яды.



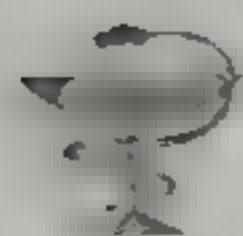


Таблица 24.1

Примеры реагентов, используемых при изолировании летучих ядов методом микродиффузии

Яд	Вытесняющий агент	Абсорбирующий агент	Наблюдаемые изменения
CO	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 10% -ный раствор	Раствор хлорида палладия	Серебристый налет металлического палладия на поверхности раствора во внутренней камере
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , насыщенный раствор	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> , серно-кислый раствор	Окраска от зеленой до фиолетовой (реакция протекает и с другими восстановителями)
HCOOH	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 10% -ный раствор	Раствор Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> и NaHSO <sub>3</sub>	Хромотроповая кислота в H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> конц. при нагревании и последующем охлаждении — розовая или фиолетовая окраска

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

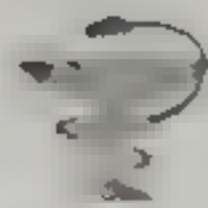
1. К летучим ядам относятся:

- а) этиленгликоль;
- б) бензол;
- в) толуол;
- г) ацетон;
- д) газолин.

2. Для изолирования летучих ядов используют:

- а) метод Крамаренко;
- б) перегонку под пониженным давлением;
- в) микродиффузию;
- г) настаивание с подкисленной водой;
- д) метод перегонки с водяным паром.





3. Перегонку с водяным паром используют для изолирования:

- a) несмешивающихся с водой органических веществ;
- b) производных барбитуровой кислоты;
- c) бензола;
- d) летучих ядов, образующих азеотропную смесь;
- e) летучих веществ, находящихся в биологическом материале.

4. Метаболитом хлороформа является:

- a) иприт;
- b) трихлорэтанол;
- c) хлорпромазин;
- d) фосген;
- e) дихлорметан.

5. Гепатотоксическим действием обладают:

- a) хлороформ;
- b) четыреххлористый углерод;
- c) окись углерода;
- d) метанол;
- e) метиленхлорид.

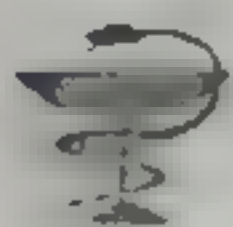
6. Продуктами гидролиза тетрахлорметана могут быть:

- a) фосген;
- b) хлорноватистая кислота;
- c) хлор;
- d) хлороводородная кислота;
- e) диоксид углерода.

7. При пероральном поступлении тетрахлорметана в организм всасывание происходит в:

- a) желудке;
- b) толстом кишечнике;
- c) тонком кишечнике;
- d) легких;
- e) печени.





8. В трупах теплокровных тетрахлорметан в наибольших количествах присутствует в:

- a) костном мозге;
- b) крови;
- c) головном мозге;
- d) жировой ткани;
- e) печени;
- f) почках.

9. В неизменном виде выведение трихлорметана из организма осуществляется в основном:

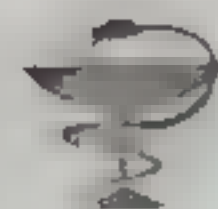
- a) через печень;
- b) через легкие;
- c) через почки;
- d) с мочой;
- e) с выдыхаемым воздухом.

## V II. Семинар

### Образцы задач, входящих в карточки индивидуального задания

1. Перечислите основные свойства органических веществ, по которым их можно включить в группу летучих ядов.
2. Дайте химическую классификацию летучих ядов.
3. Какие группы людей наиболее чувствительны к воздействию летучих ядов?
4. Распространение летучих ядов в окружающей среде. Источники и пути поступления токсикантов в организм.
5. Токсикомании. Причины возникновения, особенности течения заболевания.
6. Дайте характеристику процесса всасывания (абсорбции) паров летучего токсиканта.
7. От каких факторов зависит распределение летучих ядов в организме?
8. Методы изолирования и определения летучих ядов. Перегонка с водяным паром: для каких веществ используют? Принцип, лежащий в основе метода, схема установки. Схема анализа дистиллята.





9. Как влияет значение рН на степень извлечения токсичных веществ из биоматериалов? Почему биологический материал при изолировании веществ, перегоняемых с водяным паром, принято подкислять слабой органической кислотой (винно-каменной или щавелевой)?

10. Газожидкостная хроматография, парогазовый анализ, иммуноферментный метод: краткая характеристика, какие вещества позволяют определить.

11. Механизмы токсичности летучих ядов. Особенности воздействия на организм отдельных представителей хлорированных углеводородов: трихлорэтилена, тетрахлорэтилена, метилхлорида, хлороформа, четыреххлористого углерода. Стадии ХТА.

12. Какие реакции являются основными для химико-токсикологического анализа на наличие токсикологически важных галогенопроизводных углеводородов?

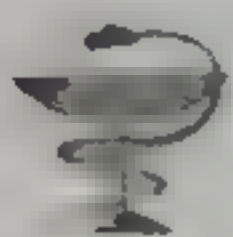
### V III. Лабораторная работа «Методы идентификации галогенопроизводных углеводородов»

#### Задание 1

Заполните таблицу, отметив химико-токсикологические характеристики летучих ядов группы галогенопроизводных углеводородов.

№ п/п	Токсикант и его химическая формула	Физические свойства (температура кипения, плотность, растворимость)	Механизмы токсического действия. Реакции биотрансформации	Клинические признаки отравления. Детоксикационные мероприятия	Схема изолирования	Общие и частные методы идентификации и количественного определения. Уравнения основных реакций
1	2	3	4	5	6	7
1	Тетрахлорметан					
2	Хлороформ					





Продолжение табл.

1	2	3	4	5	6	7
3	1,2-дихлорэтан					
4	Трихлорэтилен					
5	Тетрахлорэтилен					
6	Метиленхлорид					

### Задание 2

Проведите идентификацию и количественное определение тетрахлорметана (см. приложение 24).

*Опыт 1.* При нагревании тетрахлорметана со спиртовым раствором щелочи образуются хлорид-ионы, которые легко обнаружить при добавлении ионов серебра.

К 1–2 мл исследуемого раствора (дистиллята) добавляют 1 мл 10% -ного этанольного р-ра гидроксида натрия и кипятят 3–5 мин. Затем раствор охлаждают, подкисляют 10–20% -ным р-ром азотной кислоты до  $\text{pH} = 1$  и добавляют 0,5 мл 1% -ного р-ра нитрата серебра. В присутствии тетрахлорметана появляется белый осадок  $\text{AgCl}$ , растворимый в избытке аммиака.

Данная реакция неспецифична. Подобным образом могут быть определены также многие неорганические хлориды и ряд органических веществ, имеющих в своей структуре ковалентно связанные атомы хлора.

*Опыт 2.* Тетрахлорметан при нагревании в присутствии неорганических оснований образует с первичными аминами изонитрилы, обладающие неприятным запахом (см. приложение 24).

К 1 мл исследуемого раствора (дистиллята) добавляют 0,5 мл 10% -ного этанольного р-ра гидроксида калия и 0,1 мл 2–3% -ного водного р-ра анилина при нагревании ( $98\text{--}100^\circ\text{C}$ ) на водяной бане в течение 1–2 мин. В присутствии тетрахлорметана появляется неприятный запах изонитрила.

Данная реакция неспецифична. Подобным образом можно определить и ряд других галогенпроизводных органических соединений, например трихлорэтан, хлоралгидрат. 1,2-дихлорэтан данной реакции не дает.





*Опыт 3.* К 2 мл исследуемого раствора (дистиллята) добавляют 1 мл ацетона, 10 мл пиридина, 3 мл 30%-ного р-ра гидроксида натрия и выдерживают реакционную смесь 3 мин при нагревании (98–100 °С) на водяной бане. В присутствии тетрахлорметана наблюдается красное окрашивание (полиметиновое соединение).

Данная реакция неспецифична по отношению к тетрахлорметану. Таким же образом определяют хлороформ, хлоралгидрат и ряд других хлорпроизводных органических соединений. При использовании данной реакции необходимо проведение контрольного опыта.

*Опыт 4.* Считают, что тетрахлорметан, как и ряд близких к нему по структуре хлорорганических соединений (хлороформ, бромформ, хлоралгидрат и др.), при нагревании с гидроксиаренами в присутствии гидроксидов щелочных металлов образует лейкоаурин, который, окисляясь, переходит в окрашенную форму — аурин.

К 1 мл исследуемого раствора (дистиллята) добавляют 1 мл 10%-ного р-ра 1,3-дигидроксибензола, 1 мл 20%-ного р-ра гидроксида натрия и нагревают реакционную смесь при 80 °С в течение 15 мин.

В присутствии тетрахлорметана реакционный раствор приобретает красное окрашивание.

### Задание 3

Проведите идентификацию трихлорметана.

*Опыт 1.* Выделение хлора из структуры трихлорметана в виде хлорид-ионов (см. приложение 24).

Образующиеся ионы хлора способны при взаимодействии с ионами серебра в азотно-кислой среде образовывать малорастворимый хлорид серебра белого цвета.

Процесс определения осуществляется по схеме, описанной выше для идентификации тетрахлорметана.

*Опыт 2.* Образование полиметинового соединения проводят по методике для тетрахлорметана.

*Опыт 3.* К 1 мл исследуемого раствора (дистиллята) добавляют 1 мл этанола и 3 мл 2%-ного р-ра  $\beta$ -нафтола в 40%-ном





р-ре гидроксида калия. В присутствии трихлорметана реакционный раствор приобретает голубое окрашивание.

*Опыт 4.* Восстановление солей меди (II). В щелочной среде трихлорметан переходит в формиат-ион, способный проявлять восстанавливающие свойства и взаимодействовать в условиях повышенной температуры с реактивом Феллинга, содержащим соль меди (II), с образованием окрашенного осадка оксида меди (I).

**Методика определения.** К 2 мл исследуемого раствора (дистиллята) прибавляют 2 мл 10%-ного р-ра гидроксида натрия, 0,2–0,3 мл реактива Феллинга и нагревают полученный раствор при 98–100° С на водяной бане в течение 5–6 мин. В присутствии трихлорметана наблюдается появление желтого осадка, окраска которого затем меняется на красную. Подобным образом могут быть определены альдегиды (в том числе формальдегид, ацетальдегид, хлоралгидрат), различные сахара, гидразин и его производные, аскорбиновая кислота и многие другие восстановители неорганической и органической природы.

Данная реакция позволяет идентифицировать трихлорметан в присутствии ряда близких по структуре и свойствам хлорорганических веществ (1,2-дихлорэтана, тетрахлорметана, дихлорэтила и др.).

#### Задание 4

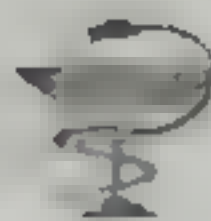
Проведите идентификацию 1,2-дихлорэтана.

*Опыт 1.* При нагревании в щелочной среде в условиях повышенного давления молекула 1,2-дихлорэтана теряет органически связанный хлор, который переходит в ионизированное состояние.

Образующиеся ионы хлора могут в азотно-кислой среде взаимодействовать с ионами серебра, образуя малорастворимый хлорид серебра белого цвета (см. приложение 24).

В стеклянную ампулу вместимостью 1 мл помещают по 0,5 мл исследуемого раствора (дистиллята) и 10%-ного р-ра карбоната натрия. Ампулу запаивают, заворачивают в хлопчатобумажную ткань и погружают в кипящую воду (водяная баня) на 1–2 ч. По истечении указанного времени ампулу из-





влекают, охлаждают до комнатной температуры и вскрывают. К раствору, извлеченному из ампулы, прибавляют по каплям 10%-ный раствор азотной кислоты до кислой реакции и 0,2–0,3 мл 1%-ного раствора нитрата серебра. В присутствии 1,2-дихлорэтана появляется белый осадок, растворимый в избытке аммиака.

*Опыт 2.* Реакция с фуксинсернистой кислотой после получения этиленгликоля и окисления его до формальдегида (см. приложение 24).

В стеклянную ампулу вместимостью 1 мл помещают по 0,5 мл исследуемого раствора (дистиллята) и 10%-ного раствора карбоната натрия. Ампулу запаивают, заворачивают в хлопчатобумажную ткань и погружают в кипящую воду (водяная баня) на 1–2 ч. По истечении указанного времени ампулу извлекают, охлаждают до комнатной температуры и вскрывают. К раствору, извлеченному из ампулы, прибавляют по каплям 10%-ный раствор серной кислоты до кислой реакции, 0,1 мл 5%-ного перйодата калия в 1 моль/л растворе серной кислоты и выдерживают реакционную смесь в течение 5 мин. По истечении указанного времени к реакционной смеси прибавляют 0,15–0,2 мл концентрированной серной кислоты, встряхивают полученную смесь, охлаждают до комнатной температуры холодной водой и обрабатывают 1 мл раствора фуксинсернистой кислоты.

В присутствии формальдегида появляется сине-фиолетовое или красно-фиолетовое окрашивание.

*Опыт 3.* В основу определения положена способность 1,2-дихлорэтана в концентрированном растворе щелочи при повышенной температуре и давлении переходить в ацетилен, который с раствором соли меди (I) в присутствии аммиака образует окрашенный ацетиленид меди (I).

В ряд ампул вместимостью 1 мл каждая помещают по 0,5 мл исследуемого раствора (дистиллята) и по 0,5 мл 30–40%-ного водного раствора гидроксида натрия. Ампулы запаивают, заворачивают в хлопчатобумажную ткань и погружают в кипящую воду на час (водяная баня). По истечении указанного времени ампулы извлекают из кипящей воды, охлаждают до комнатной температуры и вскрывают.





К 1 мл содержимого ампул прибавляют по каплям 30%-ный р-р уксусной кислоты до кислой реакции и обрабатывают полученный раствор 0,2 мл реактива (аммиачного раствора нитрата меди (I)). В присутствии 1,2-дихлорэтана развивается розовое или красное окрашивание или выпадает осадок. Подобным образом может быть определен изомер дихлорэтана с атомами хлора в положении «1,1». Данная методика позволяет селективно определять 1,2- и 1,1-дихлорэтан в присутствии трихлорметана, тетрахлорметана и хлоралгидрата.

**Приготовление реактива.** В мерную колбу вместимостью 50 мл вносят 1 г нитрата меди (II), 4 г гидроксилamina, растворяют в небольшом количестве воды, прибавляют к образовавшемуся раствору 5 мл 20%-ного р-ра аммиака, взбалтывают содержимое колбы до обесцвечивания, после чего доводят водой до метки.

**Опыт 4.** 1,2-дихлорэтан обладает способностью в условиях повышенной температуры образовывать с хинолином окрашенное соединение, относящееся к группе цианиновых красителей (см. приложение 24).

Исследуемый раствор (дистиллят) или определенную его часть экстрагируют 5 мл хлороформа. Экстракт пропускают через фильтр с безводным сульфатом натрия. К 0,5 мл фильтрата прибавляют 1,5 мл хинолина и нагревают полученную смесь 3–5 мин при 200 °С на глицериновой бане. В присутствии 1,2-дихлорэтана реакционная смесь приобретает оранжево-желтое или красное окрашивание. Подобным образом могут быть определены также такие галогенорганические соединения, как хлористый бензил, хлористый метил, хлористый этил, бромистый этил, йодистый этил и др.

Реакция позволяет отличить 1,2-дихлорэтан от 1,1-дихлорэтана, трихлорметана, тетрахлорметана, хлоралгидрата.

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 314–339.



## ЗАНЯТИЕ

25

### ЛЕТУЧИЕ ЯДЫ.

## 2. КИСЛОРОДСОДЕРЖАЩИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар.
- III. Лабораторная работа «Методы идентификации летучих кислородсодержащих органических соединений».

### *Целевые задачи*

- изучить токсикологические характеристики кислородсодержащих органических соединений, изолируемых из биоматериалов дистилляцией;
- познакомиться с основами ХТА летучих кислородсодержащих органических соединений;
- освоить методики идентификации летучих кислородсодержащих органических соединений;
- изучить методы количественного определения кислородсодержащих органических соединений.

### *Краткое теоретическое введение*

К летучим ядам относятся многочисленные кислородсодержащие органические соединения. Среди них — спирты, гликоли, карбонильные соединения, карбоновые кислоты, фенолы. Общей характеристикой этих соединений является





их низкая температура кипения. На примере отдельных представителей рассмотрим их химико-токсикологическую характеристику.

## 1. Спирты

### 1.1. Этанол (1-гидроксиэтан, этиловый спирт, алкоголь, винный спирт) $C_2H_5OH$ , $M_r$ 46,07

Этанол — бесцветная летучая жидкость с характерным запахом, жгучая на вкус. Горит синеватым пламенем. Температура кипения безводного (абсолютного) этанола  $78,39^\circ C$ . Этиловый спирт-ректификат является азеотропной смесью 95,6%-ного этанола и 4,4%-ной воды и кипит при температуре  $78,15^\circ C$ .

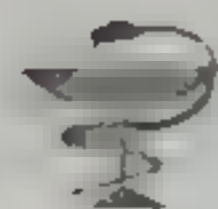
Основными путями поступления этанола в организм, приводящими к отравлениям различной степени тяжести, являются пероральный и ингаляционный. При пероральном приеме этанола он частично всасывается уже в ротовой полости, глотке и пищеводе, но основные количества всасываются в желудке и тонком кишечнике. В среднем через 1,5 ч концентрация этанола в крови достигает максимального уровня. Процесс всасывания продолжается в течение 2–3 ч. Пищевые продукты, в особенности жиры и белки, задерживают всасывание этанола. При приеме этанола натошак максимальная концентрация его в крови достигается уже через 40–90 мин.

В организме этанол воздействует на кору головного мозга, ослабляя процессы торможения, что обеспечивает преобладание процессов возбуждения над процессами торможения. В больших дозах этанол угнетает функции спинного и продолговатого мозга. Смерть может наступить от паралича дыхательного центра.

Степень токсического воздействия этанола зависит от дозы вещества, наличия или отсутствия в нем тех или иных примесей, возраста и пола пострадавшего, его этнического происхождения, состояния здоровья, особенностей индивидуальной чувствительности организма, определенных условий приема отравляющего агента.

Смертельная доза этанола для человека при однократном приеме в среднем составляет 6–8 мл этанола на 1 кг массы





тела, что примерно соответствует 200–300 мл 95%-ного этанола (при отсутствии приобретенной толерантности). Практически летальная доза чистого этилового спирта для человека колеблется в достаточно широких пределах — от 100–150 до 800 г и более. Алкогольная кома развивается при концентрации этанола в крови около 3 г/л.

Этанол потенцирует (усиливает) действие ряда органических веществ, в том числе относящихся к лекарственным (например, снотворных средств, транквилизаторов).

Различают *острые и хронические отравления* этанолом. Острые отравления, как правило, связаны с приемом этилового спирта или жидкостей, содержащих более 12% этанола.

Длительное злоупотребление этанолом приводит к хроническому отравлению. По отношению к этиловому спирту у пьющего человека развиваются привыкание и пристрастие. Алкогольная зависимость (алкоголизм) характеризуется нарушениями в работе различных органов и систем: наблюдается стойкое расширение сосудов лица, тремор конечностей, возникают явления цирроза печени, перерождения сердечной мышцы и почек. Нарушение психического состояния выражается в появлении симптомов белой горячки.

При *биотрансформации этанола* происходит его окисление до ацетальдегида. Этот процесс может осуществляться при участии ряда ферментов: АДГ, каталазы, которая может замещаться НАДФН-зависимой оксидазой и ксантиноксидазой, а также фермента CYP2E1, являющегося основным компонентом системы микросомального окисления этанола в печени. Образующийся ацетальдегид подвергается окислению в присутствии АЛДГ до уксусной кислоты, которая в дальнейшем метаболизируется в диоксид углерода и воду. Установлено, что скорость окисления этанола в организме человека составляет около 100 мг/кг в час.

От общего количества этанола, попавшего в организм, выделяется не более 10%. При этом до 7% выделяется легкими, остальное количество — с мочой (2–2,5%), потом (около 1%), через кожные покровы. При однократном приеме этанола продолжительность его выделения составляет около 10 ч. Небольшие количества этанола из организма теплокровных





могут экскретироваться в виде конъюгата с глюкуроновой кислотой.

В качестве объектов исследования от живых лиц используют выдыхаемый воздух, промывные воды желудка, рвотные массы, слюну, кровь, мочу. При исследовании трупов этанол определяют в крови, спинномозговой и внутриглазной жидкости, моче, содержимом желудка, печени, почке.

**Детоксикационные мероприятия.** При отравлении этанолом, попавшим в организм пероральным путем, следует промыть желудок через зонд большим количеством воды (5–8 л), вызвать рвоту, не прибегая к рвотным средствам.

**Изолирование** этанола из биологических объектов осуществляют перегонкой с водяным паром.

### Идентификация

**Метод ГЖХ.** Определение основано на способности спиртов образовывать эфиры азотистой кислоты, обладающие более высокой летучестью по сравнению с соответствующими спиртами.

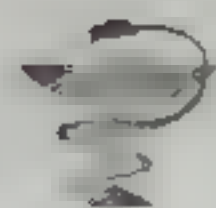
Возможна химическая идентификация этанола (см. лабораторную работу и приложение 25.1).

### 1.2. Метанол (1-гидроксиметан, метиловый спирт, древесный спирт) ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), $M_r$ 32,04

Метанол — бесцветная летучая жидкость с характерным запахом, жгучая на вкус. Горит бледно-голубым пламенем. Температура плавления  $-97,9^\circ\text{C}$ , температура кипения  $64,5^\circ\text{C}$ . Метанол легко смешивается с водой, другими спиртами, бензолом, ацетоном. Метанол применяют как полупродукт синтеза формальдегида, уксусной кислоты и как метилирующий агент при получении диметилтерефталата, метилметакрилата, метилацетата, метиланилина. Метанол широко известен как растворитель и топливо (или добавка к топливу) для ряда типов двигателей. Метанол используют для денатурации этанола (до 20% метанола в этаноле) и как компонент антифризов.

Основными путями поступления метанола в организм являются пероральный и ингаляционный. Отравления могут происходить при ошибочном (обычно вместо этанола) ис-





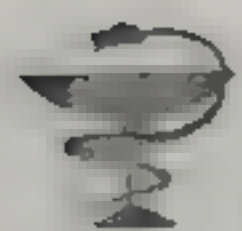
пользовании вследствие нарушения правил техники безопасности в условиях производства, хранения и применения, при аварийных ситуациях.

Клинические проявления тяжелого отравления метанолом наблюдаются уже после приема внутрь 4–10 мл. Летальная доза колеблется от 30 до 100 мл и выше. Широкий диапазон концентраций, приводящих к смертельному исходу, объясняется значительными различиями в индивидуальной чувствительности к метанолу. Известны случаи летального отравления от приема внутрь 5 мл и выздоровления при приеме 500 мл данного соединения.

Токсическое действие связано с угнетением ЦНС, развитием тяжелого метаболического ацидоза, поражением сетчатки глаза и дистрофией зрительного нерва. Местное действие на слизистые сильнее, а наркотическое — слабее, чем у этанола.

После приема метанола наблюдается эйфория, которая в отличие от эйфории, вызванной употреблением этанола, не сопровождается выраженным возбуждением, а больше напоминает состояние похмелья с головной болью, вялостью, алкогольным оглушением, нарушением координации. Это состояние быстро сменяется тяжелым сном. Период мнимого благополучия продолжается до суток. Затем отмечают общее недомогание, головная боль, мышечная слабость, появляются боли в пояснице, животе. Характерными признаками отравления метанолом являются поражения зрительного нерва и сетчатки глаза. Как правило, происходит частичная или полная потеря зрения, отмечают поражения слухового и блуждающего нервов. Реже поражаются тройничный и обонятельный нервы. Нередки судороги. Смерть может наступить в состоянии глубокой комы вследствие паралича дыхательного центра, отека головного мозга и легких. Летальный исход при отсутствии медицинской помощи возможен на 3–4 сутки. Иногда отравление бывает очень скоротечным: человек быстро теряет сознание и может умереть в течение получаса. При выздоровлении остаются стойкие расстройства зрения, вплоть до слепоты.





Биотрансформация метанола в организме в основном сводится к окислению его вначале до формальдегида, затем до муравьиной кислоты, которая превращается в диоксид углерода и воду. Окисление в организме происходит медленнее, чем этанола. В меньшей степени метанол связывается с глюкуроновой кислотой с образованием метил- $\beta$ -глюкуронида.

Легкими метанол частично выделяется в неизменном виде, частично — в виде оксида углерода (IV). Метанол также выделяется с мочой — в неизменном виде и в виде муравьиной кислоты. Имеются данные, в соответствии с которыми наибольшие количества муравьиной кислоты присутствуют в моче на 2–3 день после отравления. Метиловый спирт может обнаруживаться в крови после поступления в организм в течение 3–4 суток, в течение такого же времени происходит его выделение. Продолжительность экскреции метаболита метанола — муравьиной кислоты около 5–6 суток.

В качестве объектов исследования при экспертизах случаев отравления метанолом используют выдыхаемый воздух, содержимое желудка, промывные воды желудка, рвотные массы, слюну, кровь, мочу, печень, почки, спинномозговую жидкость. Исследования проводят, идентифицируя как сам метанол, так и его метаболиты.

*Изолирование* может осуществляться перегонкой с водяным паром.

Реакции идентификации приведены в приложении 25.2.

### 1.3. Этиленгликоль (гликоль, 1,2-диоксиэтан, 1,2-этан-диол) ( $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ ), $M_r$ 62,07

Малолетучая, бесцветная, сладковатая, вязкая жидкость с температурой кипения  $197,6^\circ\text{C}$  и температурой замерзания  $-40^\circ\text{C}$ .

Этиленгликоль смешивается с водой (образует дигидраты), этанолом и другими спиртами, ацетоном, глицерином, ледяной уксусной кислотой, плохо растворяется в эфире (7,89 г в 100 г), хлороформе, бензоле. Обладает гигроскопическими свойствами.

Этиленгликоль применяется в производстве полиэтилен-терефталата, олигоэфиракрилатов, полиалкиленгликольмалеинатов, целлофана, полиуретанов, используется в парфю-





мерной, табачной, кожевенной промышленности, в производстве красок.

Входит в состав антифризов, гидравлических, тормозных и закалочных жидкостей.

Отравления этиленгликолем являются, как правило, следствием перорального и перкутанного проникновения отравляющего вещества в организм.

При попадании в организм этиленгликоль проявляет себя как сосудистый и протоплазматический яд, подавляет окислительные процессы, приводя к дегенеративным изменениям сосудов.

Летальная доза этиленгликоля колеблется в достаточно широких пределах. Зафиксированы случаи смерти после приема 50 мл и выздоровления после приема 400–500 мл данного вещества. В большинстве случаев смерть наступает от приема 100–150 мл этиленгликоля. Описаны случаи летального исхода от приема около 800 мл и более антифриза, содержащего этиленгликоль.

Сразу после приема развивается явление опьянения легкой степени, затем проявляются симптомы поражения центральной нервной системы и почек: слабость, головная боль, тошнота, рвота, потеря сознания. При тяжелом отравлении смерть наступает на 1–3 день от острой почечной недостаточности. Смертельный исход при отравлениях большими дозами этиленгликоля может наступать при явлениях мозговой комы. На вскрытии отмечают увеличение размеров и массы почек, некроз канальцев почек, перерождение клеток, скопление кристаллов оксалата кальция в канальцах почек, увеличение размеров печени.

Поступая в организм, этиленгликоль при участии НАД-зависимой АДГ трансформируется в гликолевый альдегид, а затем — в гликолевую кислоту. Последняя, окисляясь под влиянием оксидазы гликолевой кислоты и молочной дегидрогеназы, превращается в глиоксиловую кислоту, а та, в свою очередь, в присутствии оксидазы гликолевой кислоты — в щавелевую кислоту. Считается также, что гликолевый альдегид превращается в глиоксаль, который метаболизируется до гликолевой и глиоксиловой кислот. Образующаяся





глиоксиловая кислота может параллельно трансформироваться в муравьиную кислоту,  $\alpha$ -гидрокси-3-кетoadипинат и глицин. Из муравьиной кислоты в дальнейшем образуется диоксид углерода, а из глицина — гиппурат. Щавелевая кислота, взаимодействуя в организме с ионами кальция, превращается в нерастворимый оксалат, который в виде кристаллов может присутствовать в почках, моче и откладываться в кровеносных сосудах. Имеются данные, согласно которым в неизменном виде этиленгликоль обнаруживается в организме в течение 10 дней.

Этиленгликоль *выводится* из организма вместе с выдыхаемым воздухом в виде оксида углерода (IV) и с мочой — в основном в неизменном виде и в незначительных количествах в виде оксалатов и мочевины. С увеличением дозы этиленгликоля, попадающей в организм, возрастает доля отравляющего вещества (в неизменном виде или в виде метаболитов), выводимая вместе с мочой.

При отравлении теплокровных организмов этиленгликолем данное вещество может обнаруживаться в желудке (в случаях перорального поступления яда), костях, мышцах, печени, почках, а также в моче.

*Помощь при отравлении* заключается в промывании желудка, введении в организм этанола перорально (по 50 мл через каждые 3 ч) или внутривенно и приеме препаратов, содержащих ионы кальция.

Реакции идентификации и количественного определения гликоли приведены в приложении 25.3.

## 2. Карбонильные соединения

**Формальдегид (муравьиный альдегид, метаналь) ( $\text{HCHO}$ ).**  
 $M_r$  30,03

Газообразное вещество с резким характерным запахом с температурой плавления  $-118^\circ\text{C}$ , температурой кипения  $-19^\circ\text{C}$ . Формальдегид хорошо растворим в воде, спиртах, растворим в эфире, бензоле, хлороформе, не растворяется в алифатических углеводородах. Обладает способностью к полимеризации, в большей степени при температурах ниже  $100^\circ\text{C}$  и в присутствии ряда полярных примесей.



Формальдегид широко применяется в качестве полупродукта ряда важнейших органических синтезов, известен как дубящее, антисептическое, дезодорирующее средство. Выпускают формальдегид в виде водных растворов (формалина) или твердых параформальдегида и сим-триоксана. Формалин представляет собой обычно 37–40% -ный р-р формальдегида в воде, в котором присутствует также 6–15% метанола как ингибитора полимеризации формальдегида. Выпускается формалин и с содержанием 40–50% формальдегида и 1% метанола.

Пути поступления формальдегида в организм — ингаляционный и пероральный.

Смертельной дозой для человека является 10–50 мл (по другим данным, 60–90 мл) формалина.

Результат ингаляционного воздействия относительно небольших доз формальдегида — ощущение удушья, ожог глаз, слизистой носа и трахеи, обильная слезоточивость, кашель. Более высокие концентрации данного вещества вызывают чувство сдавления в грудной клетке, головную боль, сердцебиение. Смерть может явиться следствием отека или спазма голосовой щели. Очень высокие дозы формальдегида при его ингаляционном поступлении в организм вызывают воспаление бронхиол, стенокардию и острый отек легких.

При отравлениях формальдегидом, возникающих при его пероральном попадании в организм, отмечается резкая боль за грудиной и в надчревной области, иногда сопровождающаяся кровавой рвотой с запахом формальдегида. При тяжелых формах отравления могут развиваться коллапс, кома, появляются судороги, отсутствует мочеиспускание. Летальный исход возможен от острой сердечной недостаточности или остановки дыхания.

При патолого-анатомических исследованиях обнаруживаются гиперемия слизистой оболочки желудка, признаки острого гастрита, энтерита. При попадании больших количеств формальдегида через рот в желудок отмечаются ожог, струпья и язвы слизистых рта, пищевода и желудка. Наблюдаются дегенеративные поражения почек, печени, сердечной мышцы, мозга.





Попадая в организм, формальдегид образует муравьиную кислоту и метанол. Муравьиная кислота превращается затем в диоксид углерода и воду.

Небольшая часть попавшего в организм формальдегида выводится в неизмененном виде. Основное количество формальдегида выделяется с мочой в виде муравьиной кислоты и диоксида углерода через легкие.

Возможными объектами исследования могут быть желудок с содержимым, остатки жидкости.

При отравлениях, обусловленных ингаляционным поступлением формальдегида, стараются изолировать пострадавшего от действия отравляющего агента, дают вдыхать кислород, проводят симптоматическое и поддерживающее лечение.

При отравлениях в результате перорального попадания формальдегида в организм в течение первых пятнадцати минут проводят промывание желудка 0,1%-ным р-ром аммиака или раствором, содержащим 1% карбоната натрия и 2% водородкарбоната натрия. Помимо этого, обеспечивают лечение острого разъедающего воспаления пищевода и желудка, острой сердечно-сосудистой недостаточности, острой почечной недостаточности.

Реакции идентификации формальдегида приведены в приложении 25.4.

### 3. Карбоновые кислоты

Уксусная кислота (этановая кислота) ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ),  $M_r$  60,05

Бесцветная жидкость с резким запахом, обладающая гигроскопическими свойствами, с температурой плавления  $-16,75^\circ\text{C}$ , температурой кипения  $-118,1^\circ\text{C}$ . Плотность  $1,0550 \text{ г/см}^3$ . Константа ионизации в водном растворе  $1,754 \cdot 10^{-5}$  ( $25^\circ\text{C}$ ). Диэлектрическая проницаемость 6,19 ( $25^\circ\text{C}$ ). Смешивается с водой, этанолом, бензолом, не растворяется в сероуглероде. Хорошо растворяет ряд неорганических и органических веществ, в частности серу, фосфор, ацетаты целлюлозы. При обычной температуре молекулы уксусной кислоты существуют в виде димеров, образующихся за счет межмолекулярной водородной связи. Димеры устойчивы при температуре до  $250^\circ\text{C}$ .





Пищевой промышленностью уксусная кислота широко выпускается в виде уксусной эссенции (80%-ный раствор) и столового уксуса (6–9%-ные растворы).

Применяется в органическом синтезе для получения уксусного ангидрида, ацетатов, монохлоруксусной кислоты, ряда лекарственных средств (ацетилсалициловая кислота, нитазол, парацетамол и др.), пестицидов, красителей. Уксусная кислота известна как растворитель, среда для неводного титрования, коагулянт латекса, находит применение в кулинарии, пищевой, кожевенной и текстильной промышленности.

Отравления уксусной кислотой могут происходить при пероральном, ингаляционном и перкутанном путях поступления ее в организм.

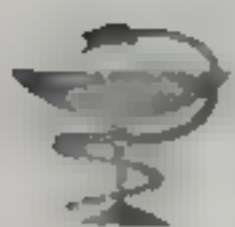
Летальная доза уксусной кислоты для человека — 15 г. Смертельная доза при остром пероральном отравлении уксусной эссенцией составляет 10–20 мл, столовым уксусом — около 200 мл.

Местное прижигающее действие уксусной кислоты слабее, чем сильных минеральных кислот. Вместе с тем для рассматриваемого соединения характерно резко выраженное резорбтивное действие, сопровождающееся некрозами, кровоизлияниями в печеночной ткани, гемолизом и агглютинацией эритроцитов.

При пероральном поступлении уксусной кислоты в организм ощущается резкая боль во рту и далее по ходу пищеварительного тракта. Появляются ожоги слизистых ротовой полости, глотки, пищевода, желудка и кишечника. Ожоги сопровождаются мучительной рвотой с поступлением крови в рвотные массы. Рвотные массы могут издавать запах уксусной кислоты. В случае попадания больших количеств отравляющего агента или неоказания своевременной помощи в течение нескольких суток может произойти перфорация стенок пищевода и желудка. Развиваются тяжелые формы поражения почек — гемоглобинурийный нефроз и почечная недостаточность. Распад и агглютинация эритроцитов может приводить к появлению многочисленных тромбов.

Характерными для ингаляционного пути поступления уксусной кислоты признаками отравления являются раздра-





жение и ожог слизистых оболочек, развитие бронхопневмоний.

Перкутанное проникновение рассматриваемого вещества в организм сопровождается симптомами химических ожогов различной степени тяжести.

Известны признаки хронического отравления уксусной кислотой. К ним относятся, в частности, отек век, гиперемия конъюнктивы, гипертрофия лимфатических узлов, воспаление глотки, симптомы катарального бронхита, небольшие изъязвления на лицевой стороне зубов, изжога, запор.

В организме уксусная кислота, окисляясь, трансформируется в ацетальдегид, а затем — в этанол. Часть ацетальдегида разлагается на оксид углерода (IV) и воду.

Выводится из организма через легкие, с мочой и калом как в неизменном виде, так и в виде отдельных продуктов биотрансформации.

Уксусная кислота является естественным продуктом обмена организма человека, в обычных условиях присутствует в ряде внутренних органов и выделяется в небольших количествах с мочой и калом.

*Изолирование* осуществляют методом перегонки с водяным паром при подкислении биологического объекта сильными неорганическими кислотами (например, серной или фосфорной) до pH 2–3 или без предварительного подкисления. Изолирование свободной уксусной кислоты можно проводить без предварительного подкисления исследуемых объектов. Учитывая высокую летучесть уксусной кислоты, отгон собирают в приемник с разбавленным раствором гидроксида натрия. Процесс дистилляции продолжают до тех пор, пока в очередной порции дистиллята уксусную кислоту уже не удастся обнаружить.

Существует вариант изолирования уксусной кислоты путем настаивания биологического материала с этанолом, отделения этанольного извлечения, его подщелачивания, упаривания до сухого остатка, растворения остатка в воде с последующим подкислением раствора сильной минеральной кислотой и дистилляцией с водяным паром.



**Идентификация.** Возможна идентификация уксусной кислоты методом газо-жидкостной хроматографии и с помощью химических реакций (см. приложение 25.5).

#### 4. Фенолы

*Гидроксibenзол (фенол) и его монометильные производные (крезолы)*

$C_6H_6O$  (гидроксibenзол),  $C_7H_8O$  (монометилгидроксibenзол).  $M_r$  гидроксibenзола 94,12, монометильных производных гидроксibenзола — 108,14.

Все указанные вещества способны перегоняться с водяным паром.

Фенол, присоединяя воду, образует жидкую карболовую кислоту, содержащую 90% фенола и 10% воды.

Гидроксibenзол (фенол) и его монометильные производные (крезолы) широко применяют в качестве полупродуктов в ряде важнейших органических синтезов, известны как лекарственные средства, стабилизаторы, реактивы. Представители данной группы соединений являются побочными продуктами коксогазовой промышленности.

Фенол и его производные могут поступать в организм через желудочно-кишечный тракт, слизистые оболочки, перкутанно, ингаляционно. Имеются указания на возможность проникновения гидроксibenзолов через плацентарный барьер в организм плода.

Отравления происходят при контакте с этими веществами в процессе их производства, хранения, применения, вследствие аварий, техногенных катастроф, в условиях загрязнения объектов окружающей среды отходами химических производств, выбросами в атмосферу и сточными водами предприятий, вследствие ошибочного приема и приема с суицидными целями.

Гидроксibenзол и его монометильные производные обладают значительной токсичностью по отношению к теплокровным животным и человеку.

Описаны многочисленные случаи отравления человека гидроксibenзолом и изомерами монометилгидроксibenзо-





ла различной степени тяжести, в том числе с летальным исходом.

При заглатывании гидроксибензола наблюдаются бело-коричневая окраска и некроз покровов губ, слизистой полости рта, пищевода, желудка.

Вдыхание паров гидроксибензола вызывает отек гортани и легких.

Основными токсическими эффектами вещества являются нарушения системного порядка. На исходной фазе отравления гидроксибензол стимулирует центральную нервную систему, затем угнетает ее и обуславливает кому, гипотермию, резкое падение артериального давления, угнетение сердца и остановку дыхания. Гидроксибензол поражает почки, в связи с чем может развиваться синдром острой почечной недостаточности за счет острого некроза канальцев.

Прием внутрь большой дозы гидроксибензола может сопровождаться смертью иногда за 30–60 мин в связи с развитием сердечной недостаточности. Непосредственно после приема токсического вещества пострадавший предъявляет жалобы на жжение рта и глотки, острую боль в животе. Затем он бледнеет, выступает холодный пот, наблюдаются расслабление мышц, головная боль, головокружение, шум в ушах, нитевидный пульс, падение артериального давления. Дыхание становится поверхностным, развиваются синюшность и гипотермия. В отдельных случаях наблюдаются слабая мышечная контрактура на лице и нижних конечностях или дрожание и тоническо-клонические судороги. Вскоре появляются признаки острого токсического отека легких, моча приобретает темный цвет и, если больной не погибает, развиваются олигурия и прочие признаки острой токсической недостаточности почек. В принципе смерть наступает за счет резкого упадка сердечной деятельности. Прием небольших, сублетальных доз гидроксибензола вызывает головокружение, жужжание и постукивание в ушах, ослабление слуха, обильное слюноотделение, затуманенность. Минимальное поражение почек клинически проявляется наличием в моче белка и крови, олигурией.





Похожую симптоматику вызывает ингаляционное отравление гидроксибензолом. В этом случае присутствует также отек легких с последующим развитием пневмонии.

В результате отравления гидроксибензолом отмечены случаи желтухи, обусловленные дегенеративными поражениями печени. Гидроксибензол, удаляемый с мочой, вызывает раздражение, а иногда даже некроз слизистой оболочки мочевого пузыря, что клинически проявляется явлениями острого воспаления мочевого пузыря — острыми позывами на мочеиспускание, ишурией, учащением мочеотделения и др.

При кожном действии гидроксибензола в зависимости от концентрации и сроков действия наблюдаются эритема, образование пузырьков, изъязвления.

Токсическое действие монометильных производных гидроксибензола во многом сходно с действием гидроксибензола.

Разрушающее действие монометильных производных гидроксибензола вызывает ощущение ожога слизистой рта, пищевода, надчревной области и сопровождается тошнотой и рвотой. Поглощение большой дозы изомеров монометилгидроксибензола обуславливает артериальную гипотензию, кому, недостаточность дыхания центральной природы, а в случае тяжелого отравления — возможный летальный исход.

В случае летального исхода от значительных количеств гидроксибензола или его монометильных производных внутренние органы трупа при патолого-анатомическом вскрытии могут издавать характерный фенольный запах.

Значительные количества гидроксибензола и его монометильных производных в свободном или связанном состоянии присутствуют в моче, жировой ткани, крови, печени и почках отравленных организмов. При отравлениях, являющихся следствием перорального приема, эти вещества могут содержаться в желудке. Органы и ткани, содержащие наибольшие количества отравляющих агентов или их метаболитов, являются потенциальными объектами судебно-химического исследования.





В организме гидроксибензол и его метильные производные подвергаются процессам окислительного гидроксилирования, превращаясь в соответствующие дигидроксипроизводные. При этом продуктами превращения гидроксибензола являются 1,2-дигидроксибензол (пирокатехин) и 1,4-дигидроксибензол (гидрохинон), продуктом превращения 2- и 4-метильных производных гидроксибензола — 1-метил-2,5-дигидроксибензол, продуктами превращения 4-метилгидроксибензола — 1-метил-3,4-дигидроксибензол и 4-гидроксибензойная кислота. Кроме того, гидроксибензол, его метильные производные и продукты их окислительного гидроксилирования образуют конъюгаты с серной и глюкуроновой кислотами.

Гидроксибензол и его метильные производные являются естественными продуктами обмена теплокровных организмов. В норме они присутствуют в моче человека в основном в виде конъюгированных форм с серной и глюкуроновой кислотами, а также в небольших количествах в свободном состоянии. Содержание общего фенола в моче человека в норме составляет 5–10 мг/л. Существуют данные, согласно которым за 24 ч выделяется с мочой примерно 3–13 мг гидроксибензола.

Гидроксибензол, его метильные производные, а также образующиеся в процессе метаболизма их соответствующие дигидроксипроизводные выводятся в основном почками в виде конъюгатов с серной и глюкуроновой кислотами (до 80–85% от введенной дозы). В неизменном виде выделение гидроксибензола и изомеров метилгидроксибензола происходит в незначительных количествах через легкие и желудочно-кишечный тракт (десятые доли процента).

Процесс экскреции рассматриваемых соединений происходит достаточно быстро. После однократного введения определенного количества гидроксибензола, не приводящего к летальному исходу, максимум экскреции наблюдается через 2,5 ч. Имеются данные о том, что однократно вводимые в организм человека крезолы в дозах 0,5–2,0 г выделяются в течение 24 ч, при введении более высоких доз эти соединения задерживаются в организме до 48 ч.

V I.

Прим

Выбер

1. М

низм ч

а) у

b) р

с) р

d) м

e) п

2. Д

а) и

b) ре

с) йс

d) ре

e) ре

3. Би

судебно-

ление эт

а) гол

b) ле

с) мо

d) сал

4. Пр

низме че

а) мол

b) гли

с) гли

d) фор

e) щан

5. Для

ка приме

а) реан

b) реан



## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. Механизмы токсического действия метанола на организм человека:

- a) угнетение ЦНС;
- b) развитие сердечно-сосудистой недостаточности;
- c) развитие почечно-печеночной недостаточности;
- d) метаболический ацидоз;
- e) поражение сетчатки глаза.

2. Для обнаружения этанола применяют:

- a) индофеноловую реакцию;
- b) реакцию с дихроматом калия;
- c) йодоформную пробу;
- d) реакцию Фудживара;
- e) реакцию с гидросульфитом натрия.

3. Биообъекты, которые дополнительно изымаются для судебно-химического исследования при подозрении на отравление этиленгликолем:

- a) головной мозг;
- b) легкие;
- c) моча и стенка мочевого пузыря;
- d) сальник, селезенка.

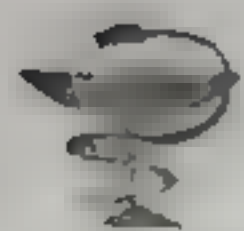
4. Продукты биотрансформации этиленгликоля в организме человека:

- a) молочная кислота;
- b) гликолевая кислота;
- c) глиоксилевая кислота;
- d) формальдегид;
- e) щавелевая кислота.

5. Для обнаружения формальдегида в содержимом желудка применяют:

- a) реакцию Фудживара;
- b) реакцию с бромной водой;





- с) йодоформную пробу;
- d) индофеноловую реакцию;
- e) реакцию с хромотроповой кислотой.

6. *Меры первой помощи при отравлении метанолом:*

- a) промывание желудка раствором сульфата натрия;
- b) промывание желудка раствором натрия гидрокарбоната;
- c) парэнтеральное введение этанола;
- d) промывание желудка раствором щавелевой кислоты.

7. *Для обнаружения уксусной кислоты применяют:*

- a) индофеноловую реакцию;
- b) реакцию с дихроматом калия;
- c) йодоформную пробу;
- d) реакцию с ионами железа (III);
- e) реакцию с гидросульфитом натрия.

8. *Укажите фермент, который является главным компонентом микросомального окисления этанола в печени:*

- a) алкогольдегидрогеназа;
- b) NADPH-оксидаза;
- c) GYP2E1;
- d) каталаза;
- e) АЛДГ.

9. *При изолировании этилового спирта методом микродиффузии в качестве абсорбирующего агента используют реактивы:*

- a) р-р хлорида палладия;
- b) р-р калия хромата;
- c) р-р калия дихромата;
- d) р-р серной кислоты;
- e) р-р натрия гидросульфита.

10. *К органам-мишеням этанола относятся:*

- a) головной мозг;
- b) легкие;
- c) почки;
- d) поджелудочная железа;
- e) печень.





## V II. Семинар

### *Вопросы для обсуждения на семинаре*

1. Какие классы кислородсодержащих органических соединений относят к летучим ядам? Как обосновать такую классификацию на основе физических свойств этих веществ?

2. Какой общий метод изолирования этой группы веществ из биологических материалов используется при ХТА?

3. Механизмы токсичности одноатомных спиртов — этанола и метанола. Ферменты и реакции биотрансформации этанола. Биотрансформация метанола. Клиническая картина отравления. Общее и различия при детоксикации этанола и метанола. Стадии ХТА при определении спиртов в биоматериалах и вещественных доказательствах.

4. Механизмы токсичности гликолей на примере этиленгликоля. Применение гликолей. Биотрансформация этиленгликоля. Клиническая картина отравления. Стадии ХТА при определении гликолей в биоматериалах и вещественных доказательствах.

5. Механизмы токсичности карбонильных соединений. Формальдегид. Биотрансформация формальдегида. Клиническая картина отравления. Стадии ХТА при определении формальдегида в биоматериалах и вещественных доказательствах.

6. Механизмы токсичности карбоновых кислот. Уксусная кислота. Биотрансформация формальдегида. Клиническая картина отравления. Стадии ХТА при определении уксусной кислоты в биоматериалах и вещественных доказательствах.

7. Механизмы токсичности фенолов. Биотрансформация. Стадии ХТА при определении фенолов в биоматериалах и вещественных доказательствах.

## V III. Лабораторная работа «Методы идентификации летучих кислородсодержащих органических соединений»

*Заполните таблицы 25.1 и 25.2, перечислив физические и химико-токсикологические свойства летучих кислородсодержащих токсикантов разных химических классов.*



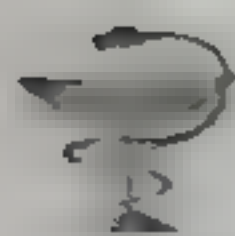


Таблица 25.1

## Физические характеристики летучих кислородсодержащих ядов

№ п/п	Токсикант	Агрегатное состояние.
		Растворимость, $t^{\circ}$ кип., плотность
1		
2		
3		

Таблица 25.2

## Химико-токсикологические характеристики летучих кислородсодержащих ядов

Токси- кант	Пути поступления в организм	Токсичес- кие дозы	Реакции биотранс- формации	Клиническая картина отравления	Детоксика- ционные мероприятия

Проведите реакции идентификации этанола, уксусной кислоты и ацетона

**Опыт 1.** Этанол в щелочной среде способен взаимодействовать с йодом с образованием йодоформа (см. приложение 25.2).

К 1–2 мл исследуемого раствора (дистиллята) прибавляют 2 мл 5%-ного р-ра гидроксида натрия и по каплям вносят в образующийся раствор 1%-ный р-р йода в 2%-ном р-ре йодида калия до появления слабо-желтой окраски. Реакционную смесь 3–5 мин нагревают при температуре  $50^{\circ}\text{C}$  (используя горячую воду из-под крана или водяную баню). В присутствии этанола появляется характерный запах йодоформа, а при достаточно больших количествах анализируемого вещества йодоформ выпадает в виде желто-коричневых кристаллов, имеющих форму шестиугольных пластинок и звездочек.

**Опыт 2.** Определение этанола по реакции с хлорангидридами арилкарбоновых кислот (бензоилхлоридом).

В присутствии щелочей этанол способен взаимодействовать с бензоилхлоридом с образованием этилбензоата, обладающего характерным запахом.

В процессе определения к 1 мл исследуемого раствора (дистиллята) прибавляют 0,2–0,4 мл бензоилхлорида и при встряхивании начинают прибавлять к реакционной смеси по





каплям 10%-ный р-р гидроксида натрия для перевода избытка реактива в бензоат натрия. При этом удушливый запах бензоилхлорида исчезает и, если в исследуемом растворе присутствует этанол, начинает ощущаться запах этилбензоата.

*Опыт 3.* Определение этанола на основе реакции с карбоновыми кислотами или их солями.

В присутствии серной кислоты этанол способен взаимодействовать с уксусной кислотой (или ацетатом натрия) с образованием сложного эфира, обладающего специфическим запахом (см. приложение 25.2).

В процессе определения к 1 мл исследуемого раствора (дистиллята) прибавляют 0,1 г высушенного ацетата натрия и по каплям 2 мл концентрированной серной кислоты. Реакционную смесь нагревают в пламени горелки или на электроплитке до появления пузырьков газа. В присутствии этанола ощущается характерный запах уксусно-этилового эфира (этилацетата).

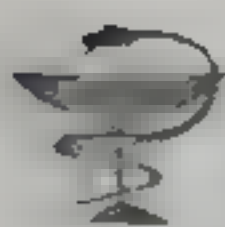
*Опыт 4.* Определение этанола по реакции с дихроматом калия с использованием микродиффузионного варианта. В основе определения лежит процесс восстановления этанолом дихромат-ионов в кислой среде до катионов хрома (III) (зеленое окрашивание — сочетание оранжевой окраски дихромат-иона и фиолетовой окраски аквакомплекса  $\text{Cr}^{3+}$ ).

В процессе определения во внешнюю камеру прибора Конвея вносят 0,8 мл исследуемого раствора (дистиллята) или биожидкости (кровь, моча, слюна) или 4 мл гомогената биологической ткани. Туда же прибавляют 1 мл насыщенного р-ра карбоната калия. Во внутреннюю камеру помещают 2 мл р-ра дихромата калия в серной кислоте и плотно закрывают прибор крышкой. При исследовании растворов и биожидкостей прибор выдерживают в течение 3 ч при комнатной температуре, при исследовании гомогената биологической ткани — 4 ч при температуре 37 °С или 12 ч при комнатной температуре. В присутствии в анализируемых объектах этанола раствор во внутренней камере приобретает оранжево-зеленое или зеленое окрашивание.

*Опыт 5.* Взаимодействие уксусной кислоты с ионами железа (III) приводит к образованию основного ацетата железа.

Содержащие исследуемое вещество 1–2 мл дистиллята обрабатывают 0,2 мл 5%-ного свежеприготовленного р-ра





хлорида железа (III). В присутствии ацетат-ионов появляется красное окрашивание реакционного раствора. Нагревание последнего приводит к выпадению бурого осадка.

**Опыт 6.** При взаимодействии уксусной кислоты с этанолом образуется этилацетат. Помещают 2–3 мл дистиллята в выпарительную чашку, растворитель выпаривают. Остаток обрабатывают 1 мл этанола и 2 мл концентрированной серной кислоты (водоотнимающий агент) в условиях нагревания на электроплитке с закрытой спиралью. Появление характерного запаха этилацетата свидетельствует о присутствии в анализируемой пробе ацетат-ионов.

**Опыт 7.** Ацетат-ионы взаимодействуют с нитратом лантана в присутствии йода в аммиачной среде с образованием окрашенного продукта.

Обрабатывают 1 мл дистиллята 0,5 мл 5%-ного р-ра нитрата лантана, 0,5 мл 0,25%-ного этанольного р-ра йода и 0,25 мл 2 моль/л р-ра аммиака. В присутствии ацетат-ионов раствор приобретает синюю или коричнево-фиолетовую окраску.

Результаты опытов внесите в таблицу 25.3 и сделайте выводы о возможности/невозможности идентификации летучих ядов исследуемой группы химическими методами.

Таблица 25.3

Качественный химико-токсикологический анализ летучих ядов

№ п/п	Анализируемый токсикант	Используемые реактивы, условия проведения реакции	Наблюдения
1			
2			
3			

Химические процессы, лежащие в основе реакций:

### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 314–339.



## ЗАНЯТИЕ

# 26

## ТОКСИЧНЫЕ ГАЗЫ

### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар.
- III. Лабораторная работа «Токсичные газы».

### *Целевые задачи*

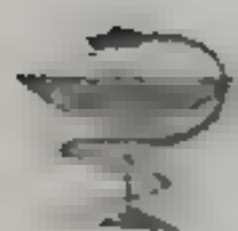
- изучить токсикологические характеристики летучих ядов — газообразных веществ;
- научиться проводить ХТА летучих ядов — газообразных веществ;
- освоить методики идентификации газообразных веществ;
- изучить методы количественного определения газообразных веществ.

### *Краткое теоретическое введение*

Среди летучих ядов большую группу составляют газообразные вещества: простые вещества — хлор, фтор; многочисленные оксиды — угарный газ CO, оксиды азота, серы; гидриды р-элементов VA и VIA групп Периодической системы элементов (ПСЭ), газообразный цианид водорода HCN, тетраэтил свинец  $Pb(C_2H_5)_4$ , летучие соединения фтора.

Подробное изложение токсических свойств некоторых из этих веществ и особенности их ХТА — см. приложение 26.1.





## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. *Перечислите основные источники угарного газа:*

- a) угольный газ;
- b) природный газ;
- c) выхлопные газы;
- d) дым.

2. *Причиной смерти при отравлении оксидом углерода является:*

- a) нарушение кислотно-основного равновесия;
- b) острая гемическая недостаточность;
- c) острая дыхательная недостаточность.

3. *Концентрация карбоксигемоглобина в крови, которая соответствует физиологической норме:*

- a) до 5%;
- b) 5–10%;
- c) 10–20%;
- d) до 30%;
- e) до 40%.

4. *Морфологическими признаками при смертельном отравлении оксидом углерода являются:*

- a) коричнево-синюшная окраска крови, тканей и трупных пятен;
- b) ярко-розовая окраска крови, тканей и трупных пятен;
- c) серо-синюшная окраска крови и трупных тканей.

5. *Ядовитые газы:*

- a) оксид углерода (II);
- b) диоксид азота;
- c) ацетон;
- d) этиленгликоль;
- e) цианистый водород.

6. I  
родифф  
реакт

- a) p
- b) p
- c) p
- d) p
- e) p
- f) p

## V II.

Подп  
для учас

Образц  
индиви

1. Пр  
газам.

2. Да  
газов пр

3. Ук  
газами.

4. Лет

5. Кан  
фтора из

6. На  
действия

ническим

7. Фто

8. Газ  
вия.

9. Вне  
ядовитых  
задания.





6. При изолировании оксида углерода (II) методом микродиффузии в качестве абсорбирующего агента используют реактивы:

- а) р-р хлорида палладия;
- б) р-р калия хромата;
- в) р-р калия дихромата;
- г) р-р серной кислоты;
- д) р-р натрия сульфита;
- е) р-р натрия гидросульфита.

## V II. Семинар

Подготовьте ответ по индивидуальной карточке заданий для участия в семинаре, используя вспомогательный материал

### Образцы задач, входящих в карточки индивидуального задания

1. Приведите примеры веществ, относящихся к ядовитым газам.
2. Дайте характеристику кинетики выделения токсичных газов при сгорании полиамидного материала.
3. Укажите основные источники отравления ядовитыми газами.
4. Летучие соединения фтора.
5. Каким методом проводят изолирование соединений фтора из биологического материала?
6. Наблюдается ли разница в механизмах токсического действия и симптомах отравления неорганическими и органическими производными фтора? Покажите на примерах.
7. Фторфосфаты и фторацетаты. Сходство и различия.
8. Газообразный фтор. Механизмы токсического действия.
9. Внесите в таблицу 26.1 основные характеристики ядовитых газов, указанных в карточке индивидуального задания.





Таблица 26.1

## Основные характеристики ядовитых газов

№ п/п	Токсикант (формула)	Описание	Механизм действия. Реакции метаболизма	Признаки отравления. Помощь при отравлении	Схема изолирования	Общие и частные методы иденти- фикации и количественного определения
1						
2						

10. Схематично изобразите и прокомментируйте спектры поглощения пробы крови после отравления угарным газом (см. с. 334 учебника).

11. Решите задачу. В отделение острых отравлений при ГКБ № 9 Орла поступила пожилая женщина со следующими симптомами: поверхностное дыхание, замедленное сердцебиение, зрачки расширенные, пульс напряженный. Женщина периодически теряет сознание. Родственники, вызвавшие «Скорую помощь», сказали, что женщина незадолго до того, как ей стало плохо, пила чай с абрикосовым вареньем.

Скажите, каким веществом могла отравиться женщина? Почему? Какие меры оказания первой помощи пострадавшей нужно предпринять? Укажите стадию отравления и концентрацию токсиканта, обнаруженного у женщины при проведении ХТА. Какие биоматериалы необходимы для проведения ХТА? Какие документы нужно при этом оформить?

12. Опишите физико-химические свойства диоксида азота. Укажите источники отравления диоксидом азота. Перечислите клинические признаки отравления диоксидом азота. Предложите методы ХТА.

### V III. Лабораторная работа «Токсичные газы»

Задание 1. Проведите реакции идентификации HCN

Реакция образования берлинской лазури основана на способности цианид-ионов в водно-щелочной среде при нагрева-





нии образовывать цианид железа (II), а затем гексоцианоферрат(II)-ион, который с ионами железа (III) при подкислении дает малорастворимый гексацианоферрат (II) железа (турнбулева синь) синего цвета (см. приложение 26.2).

К 1–2 мл дистиллята, содержащего исследуемое вещество и обладающего щелочной реакцией, прибавляют 0,2–0,8 мл разбавленного р-ра сульфата железа (II) и такое же количество разбавленного раствора хлорида железа (III). Смесь встряхивают, нагревают почти до кипения, охлаждают до комнатной температуры и обрабатывают 10%-ным р-ром соляной кислоты до слабокислой реакции. В присутствии цианид-ионов наблюдается появление синего осадка (окраски). В случае присутствия небольших концентраций синильной кислоты (цианидов) в исследуемом растворе (дистилляте) эффект реакции следует ожидать в течение 24–48 ч. Ускорить появление осадка или окрашивания можно, используя эффект соосаждения берлинской лазури с сульфатом бария при обработке реакционного раствора растворимой солью бария (хлорида).

*Реакция образования роданида железа.* При нагревании с раствором аммония полисульфида цианид-ионы переходят в роданид-ионы, обладающие способностью образовывать окрашенный продукт с ионами железа (III).

К 1–2 мл исследуемого раствора прибавляют 0,2–0,5 мл 20%-ного р-ра полисульфида аммония и упаривают реакционную смесь до объема около 0,5 мл на водяной бане при температуре 98–100° С. К упаренной реакционной массе прибавляют 8%-ный р-р хлороводородной кислоты до кислой реакции и обрабатывают 0,2 мл 10%-ного р-ра хлорида железа (III). В присутствии цианид-ионов развивается кроваво-красное окрашивание. Окрашенный продукт может быть экстрагирован диэтиловым эфиром.

*Определение на основе образования бензидиновой сини.* К 1–2 мл анализируемого раствора, содержащего исследуемое вещество, изолированное из биоматериала, прибавляют 1 мл 10%-ного р-ра винно-каменной кислоты. Колбу закрывают пробкой, к нижнему краю которой прикреплена влажная индикаторная бумага, пропитанная смесью растворов ацетата меди и бензидина, и нагревают несколько минут на





водяной бане. В присутствии цианид-ионов индикаторная бумага синеет.

*Определение на основе реакции с 2,4,6-тринитрофенолом (пикриновой кислотой).* В основе определения лежит процесс образования соли изопурпуровой кислоты (см. приложение 26.2).

К 1 мл щелочного раствора (дистиллята), содержащего исследуемое вещество, изолированное из биоматериала, прибавляют 1 мл 0,5%-ного р-ра 2,4,6-тринитрофенола и нагревают реакционную смесь до 50–60 °С. В присутствии цианид-ионов наблюдается появление красного окрашивания.

*Определение на основе реакции с пиридинбарбитуровым реактивом методом микродиффузии.* Помещают 2–4 мл исследуемого раствора (дистиллята) или такое же количество биожидкости, или 1 г гомогената биологической ткани в наружную камеру прибора для микродиффузии. Во внутреннюю камеру вносят 3,3 мл 0,1 моль/л р-ра гидроксида натрия, прибор закрывают крышкой и оставляют на 3–4 ч при комнатной температуре. По истечении указанного времени 1 мл жидкости из внутренней камеры прибора обрабатывают 1 мл 0,1 моль/л р-ра гидроксида натрия, 2 мл р-ра хлорамина Т. Полученный раствор встряхивают и через 2–3 мин обрабатывают 3 мл пиридинбарбитурового реактива при перемешивании. Реакционную смесь выдерживают в течение 10 мин. В присутствии цианид-ионов наблюдается появление красного окрашивания.

*Приготовление пиридинбарбитурового реактива.* В мерную колбу объемом 50 мл помещают 3 г барбитуровой кислоты, прибавляют 15 мл пиридина, 3 мл 36%-ной хлороводородной кислоты, содержимое колбы перемешивают, доводят водой до метки и фильтруют. В качестве реактива используют фильтрат.

**Задание 2.** Проведите реакции идентификации свинца при отравлении тетраэтилсвинцом

*Определение на основе реакции с дитизоном.* В основе определения лежит способность ионов свинца образовывать с енольной формой дитизона растворимый в хлороформе одно-





замещенный дитизонат свинца, имеющий красную окраску (см. приложение 26.2).

В делительную воронку помещают 1 мл исследуемого раствора, 1 мл 10%-ного р-ра гидрохлорида гидроксиламина и добавляют по каплям раствор аммиака до рН 8–9 (контролируя величину рН с помощью универсальной индикаторной бумаги). Затем в делительную воронку вносят 3 мл хлороформа, 0,2 мл 0,01%-ного р-ра дитизона в хлороформе и встряхивают содержимое воронки 2–3 минуты. В присутствии в исследуемом растворе ионов свинца хлороформный слой приобретает красное или оранжево-красное окрашивание.

*Определение на основе реакции с сульфид-ионами.* В основе определения лежит способность ионов свинца образовывать осадок сульфида свинца черного цвета (см. приложение 26.2).

В процессе определения к 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 0,2–0,3 мл раствора сульфида натрия или раствора сероводорода. В присутствии ионов свинца выпадает черный осадок.

*Определение на основе реакции с сульфат-ионами.* В процессе определения к 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 0,5 мл 5%-ного р-ра сульфата натрия (или калия). В присутствии ионов свинца выпадает белый осадок, растворимый в щелочах и в 30%-ном р-ре ацетата аммония.

*Определение на основе реакции с йодид-ионами.* В основе определения лежит способность ионов свинца образовывать осадок йодида свинца.

*Определение на основе реакции с хромат-ионами.* В основе определения лежит способность ионов свинца образовывать осадок хромата свинца желтого цвета.

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 331–335.



## ЗАНЯТИЕ 27

### ВЕЩЕСТВА, ИЗОЛИРУЕМЫЕ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НАСТАИВАНИЕМ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБЪЕКТОВ С ВОДОЙ

#### *Структура занятия*

- I. Входной тест.
- II. Семинар.
- III. Лабораторная работа «ХТА минеральных кислот, солей, щелочей и аммиака».

#### *Целевые задачи*

- изучить химико-токсикологическую характеристику веществ, изолируемых из биологического материала настаиванием исследуемых объектов с водой;
- ознакомиться с классификацией, токсикодинамикой и особенностями ХТА кислот, щелочей, аммиака, нитратов и нитритов;
- научиться проводить ХТА минеральных кислот, щелочей, аммиака и солей.

#### *Краткое теоретическое введение*

К группе веществ, которые изолируются из различных объектов настаиванием их с водой, относятся минеральные кислоты, щелочи и соли некоторых минеральных кислот.





Для очистки водных вытяжек из исследуемых объектов применяют фильтрование или центрифугование, а затем метод диализа.

Некоторые авторы минеральные кислоты, щелочи и их соли относят к группе веществ, которые изолируются из исследуемых объектов методом диализа. Такая характеристика данной группы веществ не совсем точная, так как диализ не является методом изолирования, а применяется как метод очистки водных вытяжек.

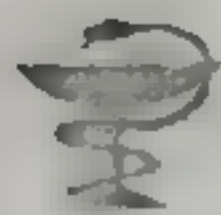
Химико-токсикологическое исследование соответствующих объектов на наличие минеральных кислот, щелочей и некоторых солей проводится тогда, когда материалы дела указывают на возможность отравления этими веществами, а также в случае положительных результатов предварительных проб на кислоты, щелочи и другие соединения в исследуемых объектах.

Для исследования на наличие минеральных кислот и едких щелочей берут желудок с содержимым, остатки пищи, рвотные массы и другие объекты. При исследовании биологического материала на наличие солей берут те же объекты и печень.

Если в трупном материале минеральные кислоты или едкие щелочи после отравления превратились в соответствующие соли, то обнаружение этих солей в биологическом материале не проводится, так как некоторые соли в определенных количествах всегда содержатся в органах и тканях людей и животных.

*Изолирование минеральных кислот, щелочей и солей из биологического материала.* Подлежащие исследованию объекты измельчают и прибавляют к ним дистиллированную воду до получения кашицеобразной массы, которую оставляют на 1–2 ч, а затем фильтруют. Для ускорения фильтрования применяют воронки или стаканчики с пористым дном, которые через соответствующие приспособления присоединяют к водоструйному насосу. Вместо фильтрования можно применять центрифугирование.





Для более полного освобождения вытяжек из биологического материала от белковых веществ и некоторых других примесей применяют метод диализа. С этой целью полученные водные вытяжки 2–3 раза подвергают диализу (по 4–6 ч). Диализаты соединяют и упаривают на водяной бане до небольшого объема (5–10 мл). Упаренные диализаты исследуют на наличие кислот, щелочей и солей.

При исследовании одежды и некоторых других объектов на наличие кислот, щелочей и солей могут быть использованы водные вытяжки, которые не подвергались диализу.

## V I. Входной тест

### Примеры вопросов входного теста

Выберите один или несколько правильных ответов

1. Минеральные кислоты изолируют из биоматериала:

- a) методом минерализации;
- b) настаиванием с водой;
- c) методом парофазной экстракции;
- d) методом микродиффузии.

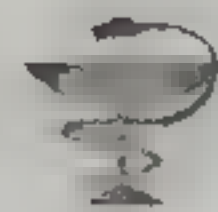
2. Для очистки водной вытяжки, содержащей серную кислоту, используют:

- a) спиртовую очистку;
- b) фильтрацию;
- c) диализ;
- d) экстракцию органическим растворителем.

3. Для обнаружения серной кислоты в дистилляте применяют реакции:

- a) с ацетатом свинца;
- b) с родизонатом натрия;
- c) с дифениламином;
- d) с хлоридом бария;
- e) окрашивания белой шерстяной нити в желтый цвет.





4. Для обнаружения азотной кислоты в дистилляте применяют реакции:

- a) с ацетатом свинца;
- b) с бруцином;
- c) с дифениламином;
- d) с хлоридом бария;
- e) окрашивания белой шерстяной нити в желтый цвет.

5. Для обнаружения соляной кислоты в дистилляте применяют реакции:

- a) с ацетатом свинца;
- b) с нитратом серебра;
- c) с дифениламином;
- d) с хлоратом калия;
- e) окрашивания белой шерстяной нити в желтый цвет.

6. Для обнаружения гидроксида калия в дистилляте применяют реакции с:

- a) гидротартратом натрия;
- b) нитрокобальтатом натрия;
- c) гидроксостибиатом калия;
- d) цинк-уранилацетатом;
- e) реактивом Несслера.

7. Для обнаружения гидроксида натрия в дистилляте применяют реакции с:

- a) гидротартратом натрия;
- b) нитрокобальтатом натрия;
- c) гидроксостибиатом калия;
- d) цинк-уранилацетатом;
- e) реактивом Несслера.

8. Для обнаружения аммиака в дистилляте применяют реакции с:

- a) гидротартратом натрия;
- b) нитрокобальтатом натрия;
- c) цинк-уранилацетатом;
- d) реактивом Несслера;
- e) сульфатом меди и лакмусом.





9. Для обнаружения нитритов в дистилляте применяют реакции с:

- а) нитратом серебра;
- б) сульфаниловой кислотой и  $\beta$ -нафтолом;
- в) реактивом Грисса;
- г) йодкрахмальной бумажкой;
- д) цинк-уранилацетатом.

## V II. Семинар

Подготовьте ответ по индивидуальной карточке заданий для участия в семинаре, используя вспомогательный материал

### Образцы задач, входящих в карточки индивидуального задания

1. Какие биоматериалы можно использовать для проведения исследований при отравлении минеральными кислотами, щелочами и их солями?

2. Какие внешние признаки биообъектов указывают на отравление серной, азотной кислотами?

3. Методы изолирования и концентрирования кислот и щелочей из биоматериала.

4. Составьте схему проведения ХТА при отравлении серной кислотой.

5. Составьте схему проведения ХТА при отравлении азотной кислотой.

6. Как должен действовать судебный химик-эксперт, исследуя биоматериал при подозрении на отравление едкими щелочами?

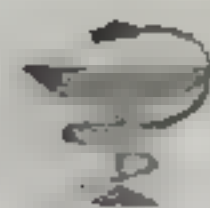
7. Минеральные кислоты. Химико-токсикологическая характеристика.

8. Отравление серной кислотой. Стадии ХТА. Основные реакции обнаружения.

9. Отравление азотной кислотой. Стадии ХТА. Основные реакции обнаружения.

10. Едкие щелочи и аммиак. Химико-токсикологическая характеристика.





11. Отравление гидроксидом калия. Стадии ХТА. Основные реакции обнаружения.

12. Отравление гидроксидом натрия. Стадии ХТА. Основные реакции обнаружения.

13. Отравление аммиаком. Стадии ХТА. Основные реакции обнаружения.

14. Отравление солями щелочных металлов: нитриты. Стадии ХТА. Основные реакции обнаружения.

### V III. Лабораторная работа «ХТА минеральных кислот, солей, щелочей и аммиака»

#### Задание 1

Каким методом осуществляется изолирование кислот, щелочей и их солей из биологического материала? Приведите пример методики изолирования.

#### Задание 2

Заполните таблицу:

Токсикант	Признаки отравления	Внешний вид исследуемых объектов	Основные реакции обнаружения
Серная кислота			
Азотная кислота			
Соляная кислота			
Гидроксид калия			
Гидроксид натрия			
Аммиак			
Нитриты			

#### Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 398–399.



## ЗАНЯТИЕ

# 28

### ЯДЫ ЖИВОТНОГО И РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ. ТОКСИЧНОСТЬ ГРИБОВ

#### *Структура занятия*

- I. Семинар «Ядовитые растения, животные и грибы. Химико-токсикологическая характеристика ядов и токсинов. Симптомы интоксикаций и отравлений. Методы детоксикации».
- II. Итоговый тест.

#### *Целевые задачи*

- ознакомиться с классификацией ядовитых растений, животных и грибов;
- изучить основные токсины животных с повышенной опасностью для человека;
- ознакомиться с методами детоксикации при отравлении токсинами.

#### *Краткое теоретическое введение*

И животные, и растения используют химические вещества для защиты и нападения. Многие ядовитые животные представляют повышенную опасность для человека. Яды некоторых животных обладают целебными свойствами. Лечебные и токсические свойства ядов животного и растительного происхождения известны с древнейших времен. Яды биоло-





гического происхождения имеют, как правило, сложный состав. Зоотоксины могут содержать белки, амины, липиды, стероиды, гликозиды, аминополисахариды, хитоны, свободные аминокислоты, 5-гидрокситриптамиин, гистамин и другие вещества. Яды растений содержат алкалоиды, гликозиды, сапонины и антрахиноны. Яды грибов представлены циклическими пептидами, гидразонами, алкалоидами, производными изоксазола, аминокислотами.

Яды животного и растительного происхождения значительно различаются механизмами токсического действия.

## V I. Семинар «Ядовитые растения, животные и грибы. Химико-токсикологическая характеристика ядов и токсинов. Симптомы интоксикаций и отравлений. Методы детоксикации»

### Задание 1

Заполните таблицу, используя дополнительную литературу:

№ п/п	Группа	Примеры токсинов	Источник токсинов	Струк- турная формула	Токсиколо- гическая характери- стика	Методы детокси- кации
1	Яды животных					
2	Яды растений					
3	Яды грибов					

### Задача

В одном из японских ресторанов Москвы посетитель заказал себе блюдо на второе, одним из компонентов которого была рыба-фугу (самый популярный деликатес среди гурманов). Через некоторое время после приема пищи (через 30 мин) посети-





тель почувствовал сначала онемение губ, затем языка, которое впоследствии распространилось на все тело («синдром изоляции от мира»). Все это сопровождалось головной болью и болью в области живота. Посетителя госпитализировали.

Основываясь на перечисленных симптомах, укажите токсикант и его химическое строение. Приведите схему ХТА.

## V II. Итоговый тест

### Образцы вопросов итогового теста

1. Основными компонентами животных токсикантов являются:

- a) белки;
- b) стероиды;
- c) хиноны;
- d) полипептиды;
- e) гликозиды.

2. К токсинам, выделяемым из бледной поганки, относятся:

- a) фаллотоксины;
- b) гиромитрин;
- c) аматоксины;
- d) псилоцибин.

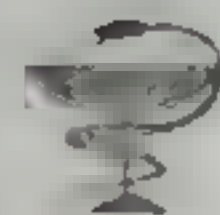
3. Какой метод используют для определения аматоксинов и фаллотоксинов в плазме крови:

- a) УФ-СФМ;
- b) ВЭЖХ;
- c) ТСХ;
- d) ГЖХ.

4. Укажите механизм действия мусцимола:

- a) стимулирование глициновых рецепторов;
- b) блокирование глициновых рецепторов;
- c) стимулирование ГАМК-рецепторов;
- d) блокирование ГАМК-рецепторов.





5. К симптомам отравления строчками относятся:

- a) гематурия;
- b) желтуха;
- c) острый панкреатит;
- d) нарушение рефлексов;
- e) коликообразные боли в животе;
- f) неукротимая рвота.

6. При отравлении какими грибами наблюдается гиромитриновый синдром:

- a) строчками;
- b) бледной поганкой;
- c) красным мухомором;
- d) грибами рода свинушка.

7. Источником какого гикоалкалоида может являться картофель:

- a) соланина;
- b) атропина;
- c) гиосциамина;
- d) конина.

8. Какой орган является мишенью для пирролизидина:

- a) почки;
- b) печень;
- c) ЦНС;
- d) сердце;
- e) кровь.

9. Буфотенин, содержащийся в яде жаб, относится к производным:

- a) скатола;
- b) имидазола;
- c) индола;
- d) хинолина.

10. Выбрать алкалоиды — производные пирролизидина:

- a) никотин;
- b) папаверин;





- c) платифиллин;
- d) хелидонин;
- e) лобелин;
- f) сенецифиллин.

11. Найдите соответствия:

1. Аманитовый синдром	a) строчок
2. Гиометриновый синдром	b) паутинник
3. Орелановый синдром	c) волоконница
4. Мускариновый синдром	d) бледная поганка

12. Для мурексина (яда пурпурной улитки) характерно следующее токсическое действие:

- a) ингибирование холинэстеразы;
- b) брадикардия, удушье;
- c) повышение АД, судороги;
- d) тошнота;
- e) сходно с действием сердечных гликозидов.

13. Для токсинов рыбы-дракона характерно следующее токсическое действие:

- a) ингибирование холинэстеразы;
- b) брадикардия, удушье;
- c) повышение АД, судороги;
- d) тошнота;
- e) сходно с действием сердечных гликозидов.

14. Укажите живые организмы, яд которых содержит серотонин, аминоксидазу, фосфалипазу А и имеет протеолитическую и гиалуронидазную активность:

- a) скорпион;
- b) кобра;
- c) ящерица-ядозуб;
- d) четкообразная ящерица;
- e) гюрза;
- f) гадюка обыкновенная.





15. Для изолирования гиромитрина из органов трупа проводят настаивание с:

- a) этанолом;
- b) водой;
- c) метанолом;
- d) раствором щавелевой кислоты;
- e) ацетоном.

16. Какие реактивы применяют для предварительных испытаний при идентификации грибных токсинов:

- a) реактив Драгендорфа–Дельвиче;
- b) хлорид железа (III);
- c) аминокантипирин;
- d) О-дианизидин;
- e) ванилин;
- f) реактив Марки;
- g) реактив Вильямсона.

17. Найдите соответствия:

Группа алкалоидов	Представитель
1. Индольные	a) папаверин
2. Пуриновые	b) платифиллин
3. Бензилизохинолиновые	c) кофеин
4. Фенантренизохинолиновые	d) морфин
5. Ациклические	e) эрготамин
6. Пирролизидиновые	f) галантамин
7. Имидазольные	g) эфедрин
	h) пилокарпин

## Литература

1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 406–456.
3. Essentials of Toxicology / Ed. Curtis, D. Klaassen, John B. Watkins. — N.Y.: Medical Publishing Division, 2003. — 535 p.



# ЗАНЯТИЕ

# 29

## РАДИОТОКСИКОЛОГИЯ

### *Структура занятия*

- I. Семинар.
- II. Итоговый тест

### *Целевые задачи*

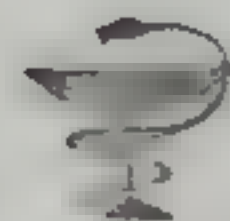
- ознакомиться с основными понятиями радиотоксикологии: радиация, активность дозы излучения, мощность радиоактивного излучения;
- научиться решать задачи по определению допустимых норм облучения.

### *Краткое теоретическое введение*

Радиоактивные материалы входят во все объекты природной среды планеты. В организме человека присутствуют незначительные количества радиоактивных веществ. Естественный радиационный фон является постоянным фактором развития живых организмов. Однако природа не наделила человека органами чувств, способными реагировать на ионизирующее излучение.

Термин «ионизирующее излучение» (радиация) означает вид излучения, который при прохождении через вещество вызывает образование ионов. Ионизирующее излучение (ИИ) может возникать в установках, созданных человеком (например, рентгеновские трубки, ускорители, реакторы), либо





9  
при распаде радиоактивных элементов (явление радиоактивности) естественного и искусственного происхождения. Обладая высокой начальной энергией, ИИ при прохождении через вещество существенно изменяет состояние атома. Типичными процессами является отрыв электрона от атома (ионизация) или перевод электрона с ближайшей к ядру оболочки на более удаленную (возбуждение). Единицей энергии ИИ обычно служит электронвольт (эВ). Численно он равен энергии, приобретаемой электроном при прохождении электрического поля с градиентом напряжения один вольт. ИИ обладает, как правило, высокими энергиями в тысячи (кэВ) и миллионы (МэВ) электронвольт. На каждый акт ионизации или возбуждения в воздухе расходуется в среднем 34–35 эВ.

Основными количественными характеристиками радиоактивного вещества являются его **активность** и **мощность дозы излучения**. Активность радиоактивного вещества (радиоактивность, активность) — это число спонтанных распадов радионуклида в единицу времени. Единицами измерения радиоактивности вещества являются *беккерель (Бк)* — в Международной системе единиц (СИ) — и *кюри (Ки)* — внесистемная единица.

При каждом акте распада высвобождается энергия, которая и передается в виде излучения окружающей среде. Степень воздействия ИИ на облучаемую среду (органы и ткани) оценивается поглощенной дозой (ПД). Поглощенная доза представляет собой отношение количества переданного веществу энергии к единице его массы. Количество переданной энергии зависит от уровня ионизации вещества: чем больше атомов вещества ионизируются, тем больше энергии поглощается в веществе. Средняя доза в органе или ткани — отношение полной энергии, поглощенной в органе или ткани, к его массе независимо от вида и энергии ИИ. В качестве единицы поглощенной дозы в системе СИ принят 1 грей (Гр), что соответствует поглощению в среднем 1 Дж ( $10^7$  эрг) энергии ИИ в массе вещества 1 кг. Ранее (порой и сейчас) использовалась внесистемная единица поглощенной энергии 1 рад:  $1 \text{ рад} = 100 \text{ эрг/г} = 10^{-2} \text{ Дж/кг} = 10^{-2} \text{ Гр}$ .





Для измерения доз и мощностей доз ионизирующих излучений используют дозиметрические приборы. Используемые дозиметрические приборы схематически состоят из двух частей: детектора и измерительного устройства. В зависимости от типа детекторов дозиметрические приборы делятся на газоразрядные (ионизационная камера, пропорциональный счетчик, счетчик Гейгера), радиolumинесцентные (сцинтилляционные, термо- и фотolumинесцентные), полупроводниковые, фотографические, химические и калориметрические.

Возникновение и развитие радиационно-индуцированных эффектов в биологических системах определяются процессами ионизации и возбуждения молекул сложных органических соединений, составляющих биологические структуры. В этом сложном процессе схематически можно выделить несколько стадий:

— проникающие в ткани организма альфа- и бета-частицы теряют энергию вследствие взаимодействия с электронными оболочками атомов и молекул;

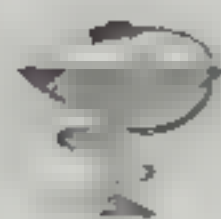
— рентгеновское излучение и гамма-излучение передают свою энергию путем фотоэлектрического поглощения, комптоновского рассеяния и образования электронно-позитронных пар. Примерно за  $10^{-12}$  с от атома за счет фото- и комптон-эффекта отрывается электрон. Электрон несет отрицательный заряд, поэтому исходно нейтральный атом становится положительно заряженным. Процесс ионизации может продолжаться и дальше, поскольку оторвавшийся электрон может взаимодействовать и с другими атомами;

— свободные электроны и ионизированные атомы в течение следующих  $10^{-8}$  с участвуют в сложной цепи реакций, в результате которых образуются новые молекулы, включая и свободные радикалы с повышенной реакционной способностью;

— в течение следующих  $10^{-6}$  с образовавшиеся свободные радикалы реагируют как друг с другом, так и с другими молекулами и через цепочку реакций могут вызвать химическую модификацию важных в биологическом отношении молекул, необходимых для нормального функционирования клеток;

— биохимические изменения могут произойти как через несколько секунд, так и спустя годы после облучения и стать





причиной гибели клеток или патологических изменений в них, приводящих, в частности, к онкологическим заболеваниям.

Процессы воздействия излучения на биологические объекты можно подразделить на физико-химические и собственно биологические. Первые представлены ионизацией, возбуждением и изменением молекулярной структуры. Вторые связаны с изменениями клеточной структуры биологической ткани, приводящими к нарушениям кинетики деления клеток, механизма их взаимодействия, изменениям генетического аппарата или гибели. Накопленные изменения в клеточных структурах ведут к нарушениям обменных процессов в организме, функций тканей и органов, иными словами, к ранним патофизиологическим эффектам. Некоторые изменения вследствие облучения в высоких дозах могут проявиться в виде клинически наблюдаемых симптомов относительно быстро — через часы, дни. Вместе с тем реакция организма на облучение может проявиться спустя годы и десятилетия в виде отдаленных последствий.

В радиационной медицине выделяют два принципиально различных класса эффектов:

**детерминированные**, которые проявляются у непосредственно облученных лиц. Эти эффекты имеют дозовый порог, ниже которого последствия не наблюдаются. Тяжесть детерминированного эффекта пропорциональна дозе облучения;

**стохастические** (вероятностные), которые проявляются спустя годы после облучения не только у непосредственно облученных лиц, но и у их потомства. Стохастические эффекты имеют длительный латентный период (годы), тяжесть их не зависит от дозы, с увеличением дозы возрастает лишь вероятность заболевания, они неспецифичны, т.е. практически неотличимы от аналогичных эффектов за счет других неблагоприятных факторов окружающей среды. Согласно современным представлениям стохастические эффекты не имеют дозового порога, т.е. любая отличная от нуля доза излучения способна вызывать заболевание.

Для оценки радиационного воздействия на человека (в большинстве случаев это пролонгированное облучение в малых дозах) Международная комиссия по радиационной за-





щите (МКРЗ) ввела понятие эквивалентной дозы (ЭД), характеризующее не только количество поглощенной энергии, но и биологическую эффективность излучения. ЭД равна произведению средней поглощенной дозы, созданной данным видом ИИ в органе или ткани, на взвешивающий коэффициент для конкретного вида излучения ( $W_R$ ):  $ЭД = ПД \times W_R$ .

Единица ЭД — зиверт (Зв), внесистемная единица — бэр.

В соответствии с Законом Российской Федерации от 09.01.96 № 3-ФЗ (с изменениями от 22.08.04) «О радиационной безопасности населения» понятие «радиационная безопасность» рассматривается как состояние защищенности настоящего и будущего поколений людей от вредного воздействия ионизирующего излучения. Считается, что если защищен человек, то защищена и окружающая среда. Основные требования к системе радиационной безопасности персонала и населения сформулированы в Нормах радиационной безопасности (НРБ-99) и Основных санитарных правилах обеспечения радиационной безопасности (ОСПОРБ-99). Для обеспечения надежного контроля техногенного облучения установлены 3 класса нормативов:

- класс 1 — основные пределы доз;
- класс 2 — допустимые уровни монофакторного воздействия, являющиеся производными от основных пределов доз;
- класс 3 — контрольные уровни.

## V I. Семинар

### Задача 1

По санитарным нормам допустимая плотность потока быстрых нейтронов составляет:

$$I_0 = 20 \frac{n}{\text{см}^2 \cdot \text{с}}$$

Определите, на каком минимальном расстоянии от источника интенсивностью  $S = 106 \text{ н/с}$  можно работать без дополнительной защиты.





### Задача 2

Индивидуальная доза облучения, полученная в результате воздействия источника  $^{60}\text{Co}$  в течение 10 с, составила 100 Гр. Сколько фотонов  $\gamma$ -излучения попало при этом в организм человека, если каждый фотон теряет в тканях тела около 40% своей энергии?

### Задача 3

Студент предполагает работать с источником  $^{90}\text{Sr}$ , имеющим активность  $A = 270$  МБк и содержащимся в стеклянной пробирке, и использовать в качестве защиты только плотные перчатки. Не опасно ли это?

### Задача 4

Количество  $^{90}\text{Sr}$ , которое ежедневно попадает с пищей в организм человека, составляет 0,94 Бк. Каково значение дозы, накопленной в костной ткани за год?

Согласно таблице доля радионуклида  $^{90}\text{Sr}$ , поглощенная костной тканью, составляет  $0,94 \text{ Бк} \cdot 0,7 = 0,66 \text{ Бк}$ , или  $5,68 \cdot 10^4$  распадов в сут (в сутках 86 400 с).

Элемент	Наиболее чувствительный орган или ткань в организме	Масса вещества или органа, кг	Доля полной дозы, полученная данным органом
Sr	Кость	7	0,7

### Задача 5

В организм человека попало 10 мг  $^{55}\text{Fe}$ . Найдите значение поглощенной дозы за 10-летний период. Период полураспада  $^{55}\text{Fe} = -2,9$  г.  $Q = 0,22$  МэВ.

### Задача 6

Каково максимальное количество радионуклида  $^{90}\text{Sr}$ , при попадании которого в организм не будет превышена доза  $D = 1$  мГ/г.  $T_{1/2}(^{90}\text{Sr}) = 28$  лет.

### Задача 7

Какова поглощенная доза в организме человека в течение 10 лет, если через органы дыхания в него попало 100 мкг изотопа  $^{239}\text{Pu}$ ? Период полураспада  $^{239}\text{Pu} = 2,4 \cdot 10^4$  лет.





### Задача 8

При какой концентрации плутония в воздухе  $n$  годовая доза от его попадания в легкие составит  $D = 1,7 \cdot 10^{-6}$  Гр.

Для расчета принять:

- 1) в среднем человек вдыхает  $V_0 = 0,01$  л воздуха в минуту;
- 2) в легких остается  $\varepsilon = 0,01$  попавшего в организм при входе  $^{239}\text{Pu}$ ;
- 3) первоначально плутоний в легких отсутствовал.

## V II. Итоговый тест

### Образцы вопросов итогового теста по радиоактивности

1. Единица измерения радиоактивности вещества в Международной системе единиц:

- a) кюри;
- b) беккерель;
- c) электронвольт.

2. Отношение количества энергии, переданное веществу, к единице массы называется:

- a) поглощенная доза;
- b) эквивалентная доза;
- c) эффективная доза.

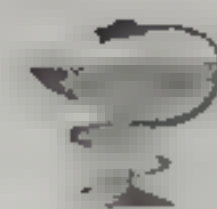
3. К корпускулярному ионизирующему излучению относятся:

- a)  $\alpha$ -излучение;
- b)  $\beta$ -излучение;
- c)  $\gamma$ -излучение;
- d) тормозное излучение;
- e) нейтронное излучение.

4. К какому виду дозиметрических приборов в зависимости от типа детекторов относится счетчик Гейгера:

- a) радиolumинесцентные;
- b) полупроводниковые;





- c) газоразрядные;
- d) фотохимические;
- e) химические;
- f) калориметрические.

*4. Стохастические радиационные эффекты:*

- a) проявляются у непосредственно облученных лиц;
- b) проявляются спустя годы после облучения не только у непосредственно облученных лиц, но и у их потомства;
- c) имеют длительный латентный период;
- d) имеют дозовый порог;
- e) тяжесть эффекта не зависит от дозы;
- f) тяжесть эффекта пропорциональна дозе облучения.

*5. Единицей измерения эквивалентной дозы в СИ является:*

- a) бэр;
- b) грей;
- c) кюри;
- d) беккерель;
- e) электронвольт;
- f) зиверт;
- g) рентген.

*6. Биологическая эффективность излучения характеризуется:*

- a) эквивалентной дозой;
- b) поглощенной дозой;
- c) эффективной дозой;
- d) экспозиционной дозой.

*7. Наиболее чувствительные к действию радиации органы и ткани человека:*

- a) почки;
- b) мочевого пузыря;
- c) легкие;
- d) печень;
- e) кровеносные сосуды;
- f) хрящевая ткань.





8. Предел для эффективной дозы облучения населения за жизнь (70 лет):

- a) 1 мЗв;
- b) 50 мЗв;
- c) 70 мЗв;
- d) 100 мЗв;
- e) 1000 мЗв.

9. Найдите соответствия:

Эффекты облучения	Вызываемые нарушения
1. Детерминированные эффекты облучения	a) лейкозы b) катаракты
2. Стохастические радиационные эффекты	c) поражение кожи d) злокачественные опухоли e) острая и хроническая лучевая болезнь f) поражение хрусталиков глаз g) гематологические нарушения h) сокращение продолжительности жизни

10. Что такое гормазис:

- a) повреждение генетического аппарата человека;
- b) стимулирующее действие малых доз радиации;
- c) изменения в составе крови;
- d) способность живых организмов восстанавливать до определенных пределов функции органов и тканей.

## Литература

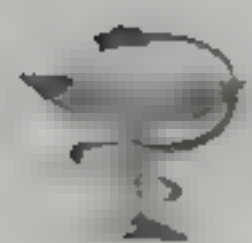
1. Материалы лекций.
2. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Под ред. Т.В. Плетеневой. 2-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 456–488.
3. Барсуков О.А., Барсуков К.А. Радиационная экология. — М.: Научный мир, 2003. — 253 с.
4. Радиационная медицина: Руководство для врачей, исследователей, организаторов здравоохранения и специалистов по радиационной безопасности. В 4-х т. /Под ред. Л.А. Ильина. — М.: ИздАТ, 2002.



## ОТВЕТЫ К ТЕСТАМ И ЗАДАЧАМ

Заня- тие	Ответы	
1	Ответы на вопросы входного теста	
	1 — b 2 — a 3 — a, b, d 4 — a, b, c 5 — c 6 — c 7 — a, b, c, g, h 8 — 1-c, d, e; 2-a, c, d, e; 3-c, d, e; 4-b, c, d, e; 5-a, c, d, e; 6-b, c, d, e 9 — b	10 — c, e 11 — 1-d; 2-a; 3-b; 4-c; 5-e; 6-f 12 — b 13 — a, b, c, d, e 14 — a, b, d 15 — a, b, c, d, e 16 — a, b, c, d, e, f, h 17 — a, b, d, h, i 18 — b
	Ответы на вопросы итогового теста	
	1 — d 2 — a 3 — a 4 — d 5 — e 6 — a 7 — a, b, c, e 8 — c 9 — a, d	10 — a, b, e, f 11 — a, b 12 — a, c, d, e, f, g 13 — a, b, c 14 — a, c, d, e 15 — b, e 16 — 1-d; 2-e 17 — 1-b; 2-a, c 18 — 1-b; 2-c; 3-d; 4-f; 5-a; 6-e
2	Ответы на вопросы входного теста	
	1 — b, d, f 2 — d, h 3 — 1-c, d, e, f ; 2-a, b, g 4 — a, e	5 — d 6 — d 7 — a, b, c, d



Заня-  
тие

Ответы

## Ответы на вопросы итогового теста

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 — 1-a, 2-d, 3-c; 4-b, 5-e, 6-f | 7 — a, c, e, f, g, h, i       |
| 2 — восстановительного           | 8 — a, b, c, d, e, f, g, h, i |
| 3 — соматогенного                | 9 — 1-e; 2-c; 3-b; 4-f;       |
| 4 — токсикогенного               | 5-a ; 6-d                     |
| 5 — a, b, d, e, g                | 10 — b, d, e, f               |
| 6 — a, b, c                      |                               |

3

## Ответы на вопросы входного теста

- |   |                             |
|---|-----------------------------|
| 1 — a, b  | 7 — d, f                    |
| 2 — a, c, d, e  | 8 — a, b                    |
| 3 — a, b, c, d  | 9 — 1-e; 2-b; 3-d; 4-c;     |
| 4 — a, c, d, e, f   | 5-a; 6-g                    |
| 5 — b, e, f, g  | 10 — 1-c; 2-e, g, h, g, k;  |
| 6 — метанол — этанол; барби-<br>тураты — неогемодез;<br>парацетамол — ацетил-<br>цистеин; соединения<br>свинца — натрия тио-<br>сульфат, пеницилламин,<br>ЭДТА, пентамин, мер-<br>каптамин, унитиол; со-<br>единения ртути —<br>дитиоглицерол, натрия<br>тиосульфат, пеницилла-<br>мин, унитиол | 3-a; 4-l; 5-d, f, i;<br>6-b |

4

## Ответы на вопросы входного теста

- |                |                   |
|----------------|-------------------|
| 1 — a, b, c    | 7 — b, c, d       |
| 2 — d          | 8 — a, b, c, d    |
| 3 — a, b, c, d | 9 — a, b, d, e, f |
| 4 — a, c, d    | 10 — d            |
| 5 — c          | 11 — b            |
| 6 — c          |                   |





Заня-  
тие

Ответы

Ответы на вопросы итогового теста

1 — c	8 — a, b, d
2 — 1-c; 2-b; 3-a	9 — a, b, c, d
3 — a, b, c, d	10 — b
4 — b, e	11 — a, c
5 — a, b, d	12 — 1-a; 2-d; 3-c; 4-b;
6 — a, c, d, e	5-c; 6-d
7 — a, c, d	

5 Ответы на вопросы входного теста

1 — a, b, c, d	9 — a
2 — a	10 — a, c
3 — b, c, d	11 — a, d
4 — a	12 — b, e
5 — a, c, d	13 — a, b, c, d, e, f
6 — b, c, d	14 — a, b, c, d, e, f
7 — b, c, d	15 — c, d, e
8 — b	

Ответы на вопросы итогового теста

1 — b	4 — a, c
2 — 1-a; 2-g; 3-f; 4-h	5 — a
3 — b, d	6 — b, d

6 Ответы на вопросы входного теста

1 — c	6 — b
2 — a	7 — c
3 — a, b	8 — d
4 — a, d	9 — f
5 — b	10 — 1-c; 2-b; 3-a; 4-e;
	5-d

7 Ответы на вопросы входного теста

1 — d (a)	5 — a, b
2 — c	6 — a, b, c, d
3 — b	7 — c
4 — a, b, d	





Заня-  
тие

Ответы

Ответы на вопросы итогового теста

1 — а (со всасыванием)	8 — 0,16 мг/л
2 — b (c)	9 — 16,7 мг/л
3 — а	10 — 0,0144 ч <sup>-1</sup>
4 — b	11 — 0,75 мг/л
5 — 0,6 л/кг · 60 кг = 36 л; $C = \frac{D}{V_d} = 0,02 \text{ г/л}$	12 — 0,16 л/кг
6 — 0,116 ч <sup>-1</sup>	13 — $K_{эл} = \frac{0,693}{2} =$ $= 0,346 \text{ ч}^{-1}$
7 — $V_d = 0,6 \text{ л/кг} \cdot 30 \text{ кг} =$ $= 18 \text{ л}; C = \frac{D}{V_d} = 31,67 \text{ г/л}$	14 — $Cl = K_{эл} \cdot V_d;$ $Cl = \frac{0,693}{T_{1/2}} \cdot V_d$

8 Ответы на вопросы входного теста

1 — d	9 — d
2 — c	10 — c
3 — b	11 — а, с
4 — b, c, d	12 — а, b, c, d
5 — c	13 — c
6 — а, b, d	14 — а, b, d
7 — а, с, d	15 — b, c, d
8 — а, b, c	

Ответы на вопросы итогового теста

- 1 — 1) большого числа ... огромного
- 2) окисление, гидролиз, восстановление
- 3) увеличением гидрофильности
- 4) метилирование, ацетилирование, сульфотирование, конъюгирование с аминокислотами, глюкуронирование
- 5) гидрофильности и снижением токсичности
- 6) метаболическим преобразованием эндогенных и экзогенных ксенобиотиков в более полярные соединения
- 7) липофильных к гидрофильным
- 8) активные
- 9) снижению ... уменьшению



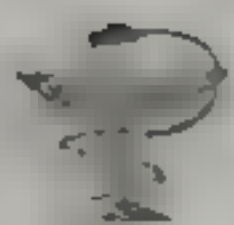


Заня-  
тие

Ответы

10) цитохрома P450																	
11) цитохрома P450																	
12) фармакогенетика																	
13) пресистемным метаболизмом или эффектом первого прохождения																	
2 — 1-b, d; 2-c; 3-a																	
3 — 1-d; 2-b, d; 3-a; 4-c, f; 5-e, f																	
4 — 1-a, b, d, f; 2-c, e																	
5 — 1-b, c, d, e; 2-a																	
6 — 1-d; 2-c; 3-b; 4-a; 5-f; 6-f, g, h, i; 7-e, h, i; 8-e, h; 9-h																	
7 — 1-a, f, g, h, i; 2-c, j; 3-b, d, e, k; 4-l, n, o, p, q; 5-a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k																	
9	<p>Ответы на вопросы входного теста</p> <table> <tr> <td>1 — b</td><td>5 — около 50 мин</td></tr> <tr> <td>2 — c</td><td>6 — приблизительно 35 мин</td></tr> <tr> <td>3 — c</td><td>7 — примерно 12,5 мин</td></tr> <tr> <td>4 — a</td><td></td></tr> </table>	1 — b	5 — около 50 мин	2 — c	6 — приблизительно 35 мин	3 — c	7 — примерно 12,5 мин	4 — a									
1 — b	5 — около 50 мин																
2 — c	6 — приблизительно 35 мин																
3 — c	7 — примерно 12,5 мин																
4 — a																	
10	<p>Ответы на вопросы входного теста</p> <table> <tr> <td>1 — a</td><td>9 — 1-g; 2-a; 3-a; 4-d; 5-e; 6-f; 7-b; 8-c</td></tr> <tr> <td>2 — b</td><td>10 — 1-a; 2-c; 3-d; 4-b</td></tr> <tr> <td>3 — 1-b; 2-b; 3-c; 4-b, c</td><td>11 — 1-b; 2-d; 3-f, g; 4-a, c, e, h</td></tr> <tr> <td>4 — b</td><td>12 — 1-c; 2-a; 3-e; 4-f; 5-b; 6-g; 7-d; 8-b</td></tr> <tr> <td>5 — a, c, d, e</td><td></td></tr> <tr> <td>6 — a, b, c, d, e, f</td><td></td></tr> <tr> <td>7 — a, b, d</td><td></td></tr> <tr> <td>8 — 1-g; 2-g; 3-c; 4-d; 5-f; 6-d; 7-b; 8-e; 9-a</td><td></td></tr> </table>	1 — a	9 — 1-g; 2-a; 3-a; 4-d; 5-e; 6-f; 7-b; 8-c	2 — b	10 — 1-a; 2-c; 3-d; 4-b	3 — 1-b; 2-b; 3-c; 4-b, c	11 — 1-b; 2-d; 3-f, g; 4-a, c, e, h	4 — b	12 — 1-c; 2-a; 3-e; 4-f; 5-b; 6-g; 7-d; 8-b	5 — a, c, d, e		6 — a, b, c, d, e, f		7 — a, b, d		8 — 1-g; 2-g; 3-c; 4-d; 5-f; 6-d; 7-b; 8-e; 9-a	
1 — a	9 — 1-g; 2-a; 3-a; 4-d; 5-e; 6-f; 7-b; 8-c																
2 — b	10 — 1-a; 2-c; 3-d; 4-b																
3 — 1-b; 2-b; 3-c; 4-b, c	11 — 1-b; 2-d; 3-f, g; 4-a, c, e, h																
4 — b	12 — 1-c; 2-a; 3-e; 4-f; 5-b; 6-g; 7-d; 8-b																
5 — a, c, d, e																	
6 — a, b, c, d, e, f																	
7 — a, b, d																	
8 — 1-g; 2-g; 3-c; 4-d; 5-f; 6-d; 7-b; 8-e; 9-a																	
11	<p>Ответы на вопросы входного теста</p> <table> <tr> <td>1 — c</td><td>3 — a, b, d</td></tr> <tr> <td>2 — 1-b; 2-a; 3-d; 4-e; 5-a; 6-c; 7-a</td><td>4 — b</td></tr> <tr> <td></td><td>5 — 1-b; 2-d; 3-e; 4-a; 5-c</td></tr> </table>	1 — c	3 — a, b, d	2 — 1-b; 2-a; 3-d; 4-e; 5-a; 6-c; 7-a	4 — b		5 — 1-b; 2-d; 3-e; 4-a; 5-c										
1 — c	3 — a, b, d																
2 — 1-b; 2-a; 3-d; 4-e; 5-a; 6-c; 7-a	4 — b																
	5 — 1-b; 2-d; 3-e; 4-a; 5-c																



Заня-  
тие

Ответы

## 12 Ответы на вопросы входного теста

1 — с

3 — a, b, d

2 — 1-b; 2-a; 3-d; 4-e; 5-a;  
6-c; 7-a

4 — b

5 — 1-b; 2-d; 3-e; 4-a;  
5-c

## Семинар — ответ к заданию 1

ИК-спектр предполагаемого яда — метанола соответству-  
ет таковому № 2.

Спектр № 2 — метиловый спирт.

Пользуясь приложением 12.3, докажем это.

В ИК-спектрах спиртов характеристическими являются  
полосы валентных и деформационных колебаний связи  
О—Н и валентных колебаний связи С—О.

- Валентные колебания группы ОН проявляются в виде  
широкой полосы при низких частотах ( $3200-3550 \text{ см}^{-1}$ ).

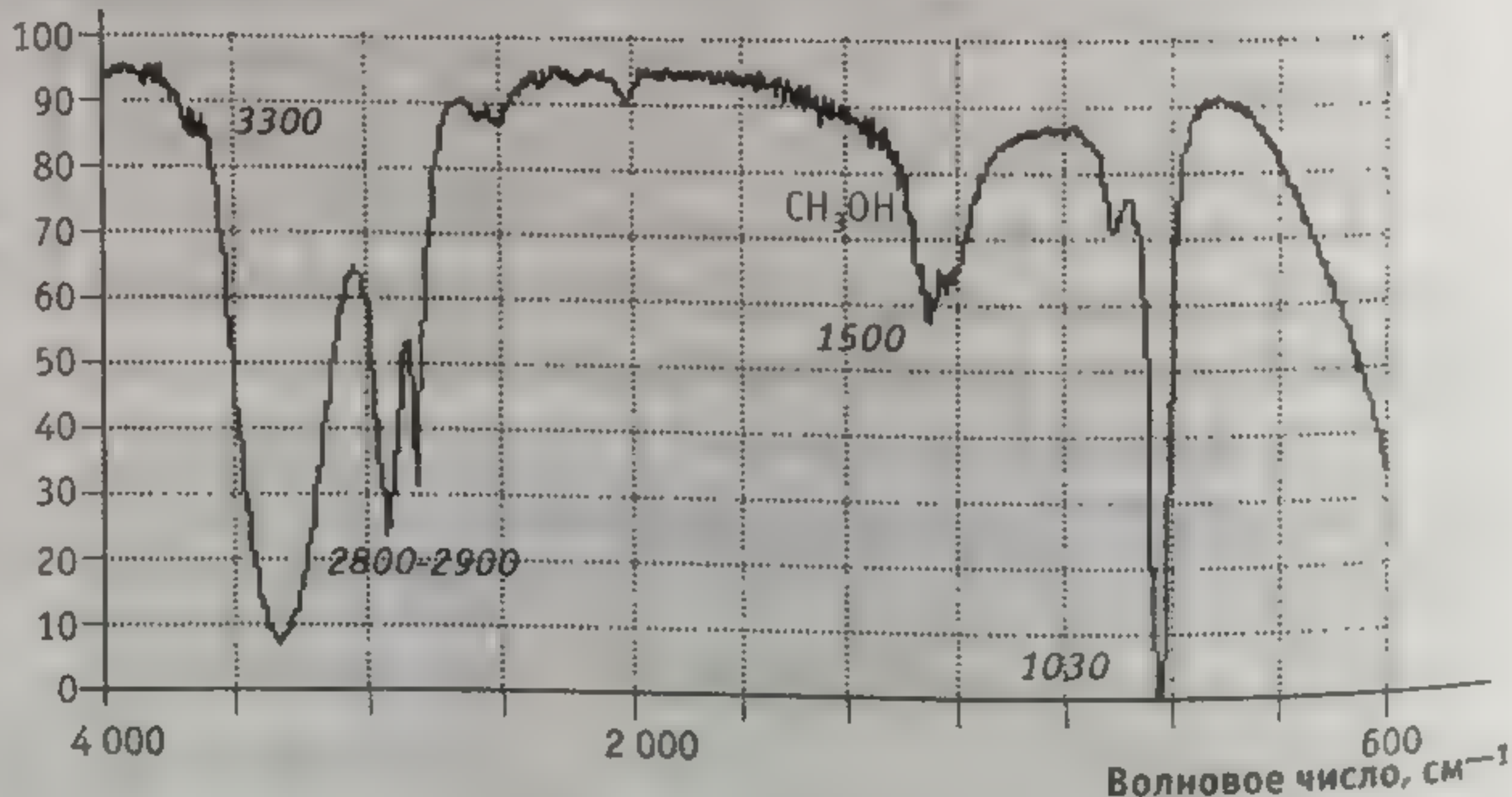
В данном спектре это —  $3300 \text{ см}^{-1}$ .

- Валентные колебания группы СН проявляются в облас-  
ти  $2800$  и  $2900 \text{ см}^{-1}$ .

- Поглощение в области  $1500 \text{ см}^{-1}$  обусловлено деформа-  
ционными колебаниями связи С—Н.

- В области  $1030 \text{ см}^{-1}$  наблюдается положение сильной  
полосы поглощения валентных колебаний связи С—О.

Пропускание, %





Заня-  
тие

# Ответы

ИК-спектр метанола: валентные колебания:

$\nu_{O-H}$  3300  $cm^{-1}$ ;  $\nu_{C-H}$  2800  $cm^{-1}$  и 2900  $cm^{-1}$   $\nu_{C-O}$  1030  $cm^{-1}$ ;

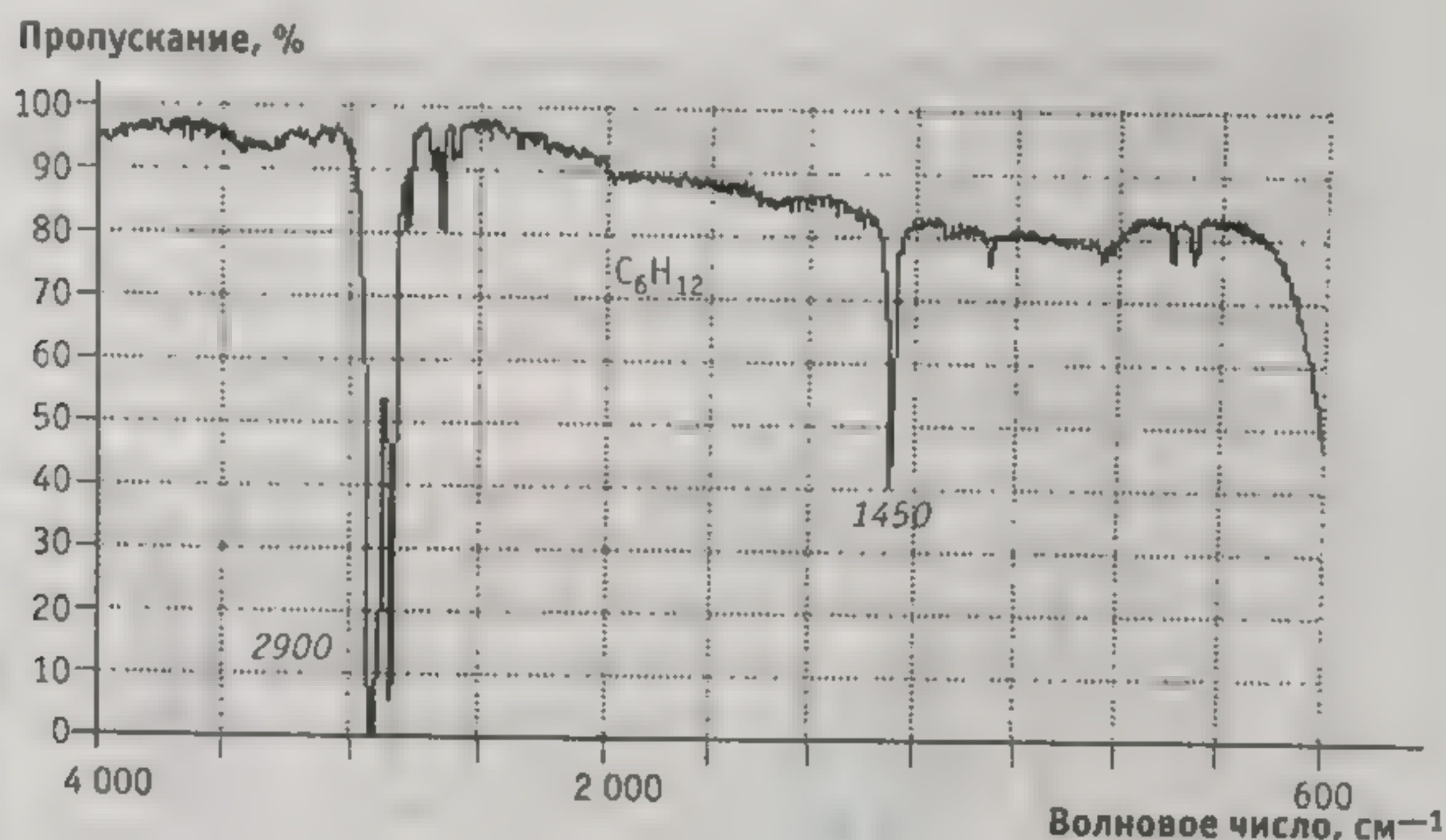
деформационные колебания:  $\delta_{C-H}$  1500  $cm^{-1}$ .

Спектр № 1 — это ИК-спектр циклогексана.

В соответствии с приложением 12.3 для алканов и циклоалканов характеристическими являются полосы валентных и деформационных колебаний связей C—H.

Валентные колебания этих связей наблюдаются в спектре в виде комплексной полосы в области 2900  $cm^{-1}$ .

Полосы деформационных колебаний связи C—H проявляются в области 1450  $cm^{-1}$ .



ИК-спектр циклогексана: валентные колебания —

$\nu_{C-H}$  2900  $cm^{-1}$ ; деформационные колебания  $\delta_{C-H}$  1435  $cm^{-1}$ .

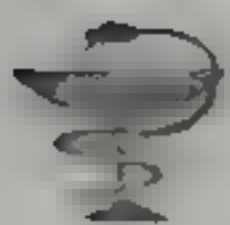
Спектр № 3 — октаналь.

В соответствии с приложением 12.3 в ИК-спектрах альдегидов имеется сильная полоса поглощения валентных колебаний группы C=O около 1725  $cm^{-1}$ .

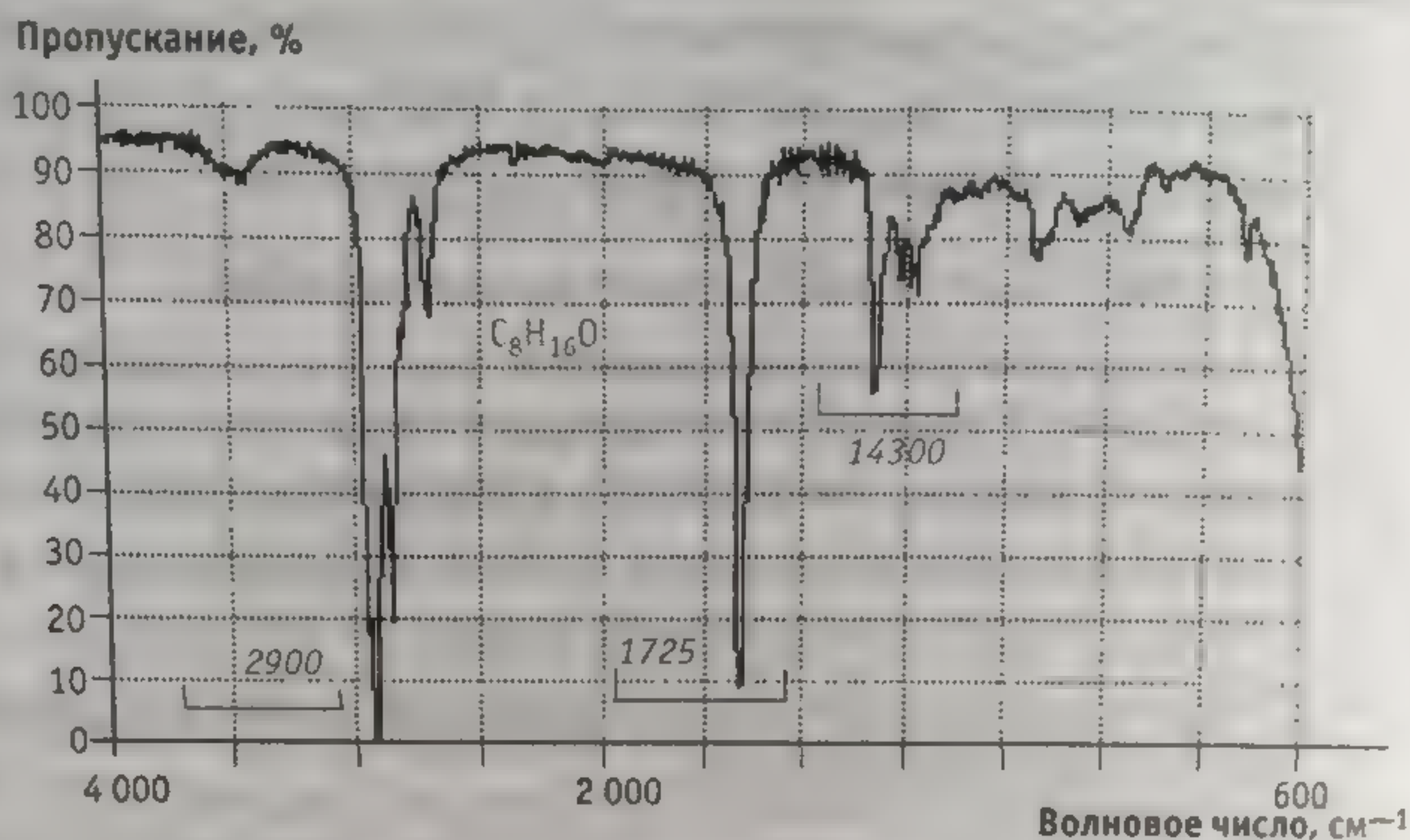
Полоса поглощения в области 2900  $cm^{-1}$  соответствует валентным колебаниям связи C—H альдегидов.

В области 1430  $cm^{-1}$  наблюдается полоса деформационных колебаний связи C—H.



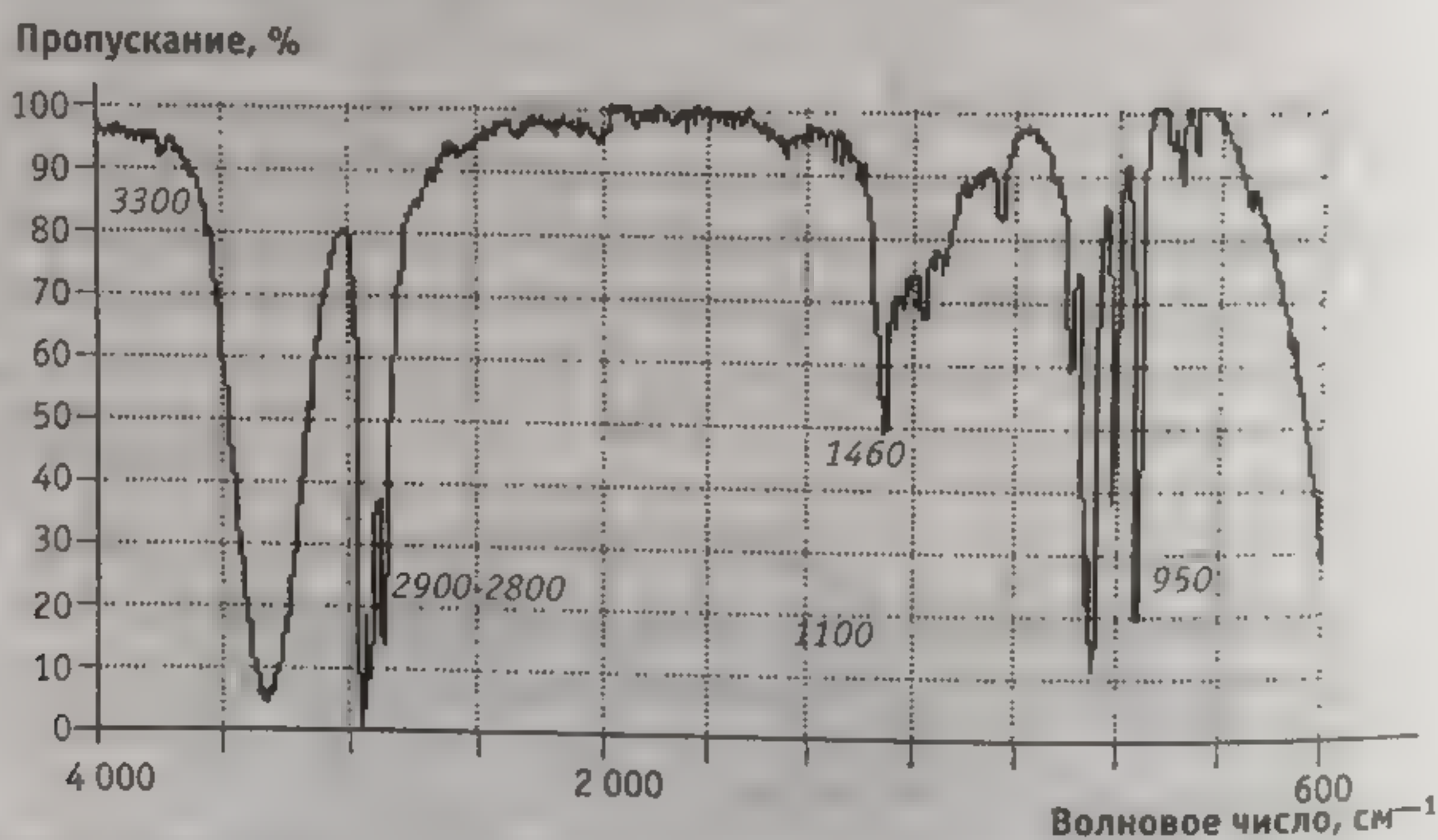
Заня-  
тие

## Ответы



ИК-спектр октанола: валентные колебания —  $\nu_{\text{C-H}}$  2900  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\nu_{\text{C=O}}$  1725  $\text{cm}^{-1}$ ; деформационные колебания —  $\delta_{\text{C-H}}$  1430  $\text{cm}^{-1}$ .

Семинар — ответ к заданию 2



ИК-спектр жидкого углеводорода: валентные колебания —  $\nu_{\text{O-H}}$  3300  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\nu_{\text{C-H}}$  2800  $\text{cm}^{-1}$  и 2900  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\nu_{\text{C-O}}$  1100  $\text{cm}^{-1}$  и 950  $\text{cm}^{-1}$ ; деформационные колебания:  $\delta_{\text{O-H}}$  1460  $\text{cm}^{-1}$ .

Анализ спектра образца химического вещества, найденного на одежде подозреваемого, позволяет сделать следующие выводы.





Заня-  
тие

Ответы

1. Одежда предполагаемого преступника действительно была загрязнена углеводородным растворителем. Характеристические полосы представленного ИК-спектра являются полосами поглощения групп ОН, СН и СО спиртов.  
2. Учитывая тот факт, что на месте преступления не обнаружены следы кетонов, альдегидов, кислот, а также спиртов, можно полагать, что одежда подозреваемого загрязнена растворителем не с места преступления.

13 Ответы на вопросы входного теста

1 — a	6 — c
2 — c	7 — c, d
3 — a	8 — a, b, c, d
4 — a, b, d	9 — a, b, c, d
5 — a, c, d	10 — a, b, c

Ответы на вопросы теста ВЭЖХ

1 — a, c, d	5 — b, c, d, e, f
2 — a, b, d	6 — a, b
3 — a, b, c, d, e, f	7 — a, b, d, e
4 — d	

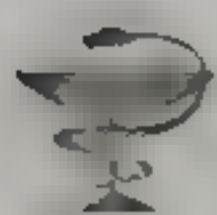
14 Ответы на вопросы входного теста

1 — b	7 — a, b, c, d
2 — a, b, c, d	8 — a
3 — a	9 — a, b, c
4 — b	10 — a
5 — c	11 — b
6 — b	

15 Ответы на вопросы теста

1 — процесс документирования метода анализа	8 — c
2 — b, c	9 — b
3 — a, c, d	10 — 1)-c
4 — b	2)-d
5 — a, b, d	3)-e
6 — b, c, e, f	4)-a
7 — a, b, c, d	5)-b





Заня-  
тие

Ответы

Ответы на задачи

3 —  $\bar{W} \pm \Delta\bar{W} = (8,7 \pm 0,4)\%$

4 —  $\bar{m} \pm \Delta\bar{m} = (5,00 \pm 0,04)$  мг,  $\bar{\epsilon} = 0,8\%$

5 —  $\bar{m} \pm \Delta\bar{m} = (5,00 \pm 0,004)$  мг,  $\bar{\epsilon} = 0,6\%$ . Истинное значение 0,500 г укладывается в доверительный интервал.

Систематическая ошибка отсутствует. Методика дает правильные результаты.

16

Ответы на вопросы входного теста

1 — b

4 — a

2 — d

5 — b

3 — a, d, e

6 — b

Задание 1

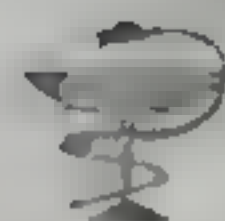
Таблица 1

Топологическая матрица расстояния  
для изониазида

№ атома <i>i/j</i>	1 N	2 C	3 C	4 C	5 C	6 C	7 C	8 O	9 N	10 N	<i>D<sub>ij</sub></i> (при <i>i &gt; j</i> )
1N	0,143	0,571	1,241	1,911	1,241	0,571	2,911	3,286	3,768	4,503	20,003
2C	0,571	0	0,67	1,34	1,812	1,142	2,34	2,715	3,197	3,932	17,148
3C	1,241	0,67	0	0,67	1,34	1,812	1,67	2,045	2,527	3,262	13,326
4C	1,911	1,34	0,67	0	0,67	1,34	1	1,375	1,857	2,592	8,834
5C	1,241	1,812	1,34	0,67	0	0,67	1,67	2,045	2,527	3,262	10,174
6C	0,571	1,142	1,812	1,34	0,67	0	2,34	2,775	3,197	3,932	12,244
7C	2,911	2,34	1,67	1	1,67	2,34	0	0,375	0,857	1,592	2,824
8O	3,286	2,715	2,045	1,375	2,045	2,775	0,375	0,25	1,232	1,967	3,199
9N	3,768	3,197	2,527	1,857	2,527	3,197	0,857	1,232	0,143	0,735	0,735
10N	4,503	3,932	3,262	2,592	3,262	3,932	1,592	1,697	0,735	0,143	

Индекс Винера  $W = \sum D_{ij} + \frac{1}{2} \sum D_{ij} (\text{при } i > j) = (0,143 + 0 + 0 + 0 + 0 + 0 + 0 + 0,25 + 0,143 + 0,143) + 1/2 \cdot (20,003 + 17,148 + 13,326 + 8,834 + 10,174 + 12,244 + 2,824 + 3,199 + 0,735) = 0,679 + 1/2 \cdot 88,487 = 44,922$





Заня-  
тие

Ответы

## Задание 2

Таблица 2

Топологические индексы Балабана некоторых нестероидных  
противовоспалительных средств  
(расчет с помощью программы ChemicDescript)

Лекарственное средство	Индекс Балабана $J$
1. Ацетилсалициловая кислота	3,392
2. Ибупрофен	2,899
3. Напроксен	2,553
4. Фенилбутазон	2,203
5. Мефенамовая кислота	2,553
6. Набуметон	2,328
7. Кеторолак	1,933
8. Кетопрофен	2,362
9. Индометацин	2,256
10. Сулиндак	2,215
11. Пироксикам	2,500
12. Мелоксикам	2,563
13. Диклофенак	2,575
14. Флорбипрофен	2,440

Таблица 3

Данные для расчета выборочного коэффициента регрессии

$x_i$	$y_i$	$x_i^2$	$x_i \times y_i$
$x_1 = 3,392$	$y_1 = 22,20$	$x_1^2 = 11,506$	$x_1 \times y_1 = 75,30$
$x_2 = 2,899$	$y_2 = 11,63$	$x_2^2 = 8,404$	$x_2 \times y_2 = 33,72$
$x_3 = 2,553$	$y_3 = 5,43$	$x_3^2 = 6,518$	$x_3 \times y_3 = 13,86$
$x_4 = 2,203$	$y_4 = 1,14$	$x_4^2 = 4,853$	$x_4 \times y_4 = 2,51$
$x_5 = 2,553$	$y_5 = 5,18$	$x_5^2 = 6,518$	$x_5 \times y_5 = 13,22$
$x_6 = 2,328$	$y_6 = 5,26$	$x_6^2 = 5,419$	$x_6 \times y_6 = 12,24$
$x_7 = 1,933$	$y_7 = 0,47$	$x_7^2 = 3,736$	$x_7 \times y_7 = 0,91$
$x_8 = 2,362$	$y_8 = 1,18$	$x_8^2 = 5,579$	$x_8 \times y_8 = 2,79$
$x_9 = 2,256$	$y_9 = 0,28$	$x_9^2 = 5,089$	$x_9 \times y_9 = 0,63$
$x_{10} = 2,215$	$y_{10} = 0,98$	$x_{10}^2 = 4,906$	$x_{10} \times y_{10} = 2,17$





Заня-  
тие

Ответы

Продолжение табл. 3

$x_i$	$y_i$	$x_i^2$	$x_i \times y_i$
$x_{11} = 2,500$	$y_{11} = 0,09$	$x_{11}^2 = 6,250$	$x_{11} \times y_{11} = 0,22$
$x_{12} = 2,563$	$y_{12} = 0,03$	$x_{12}^2 = 6,569$	$x_{12} \times y_{12} = 0,08$
$x_{13} = 2,575$	$y_{13} = 0,47$	$x_{13}^2 = 6,630$	$x_{13} \times y_{13} = 1,21$
$x_{14} = 2,440$	$y_{14} = 1,23$	$x_{14}^2 = 5,954$	$x_{14} \times y_{14} = 3,00$
$\sum x_i = 34,772$	$\sum y_i = 55,57$	$\sum x_i^2 = 87,931$	$\sum x_i \times y_i = 161,86$

Выборочный коэффициент регрессии:

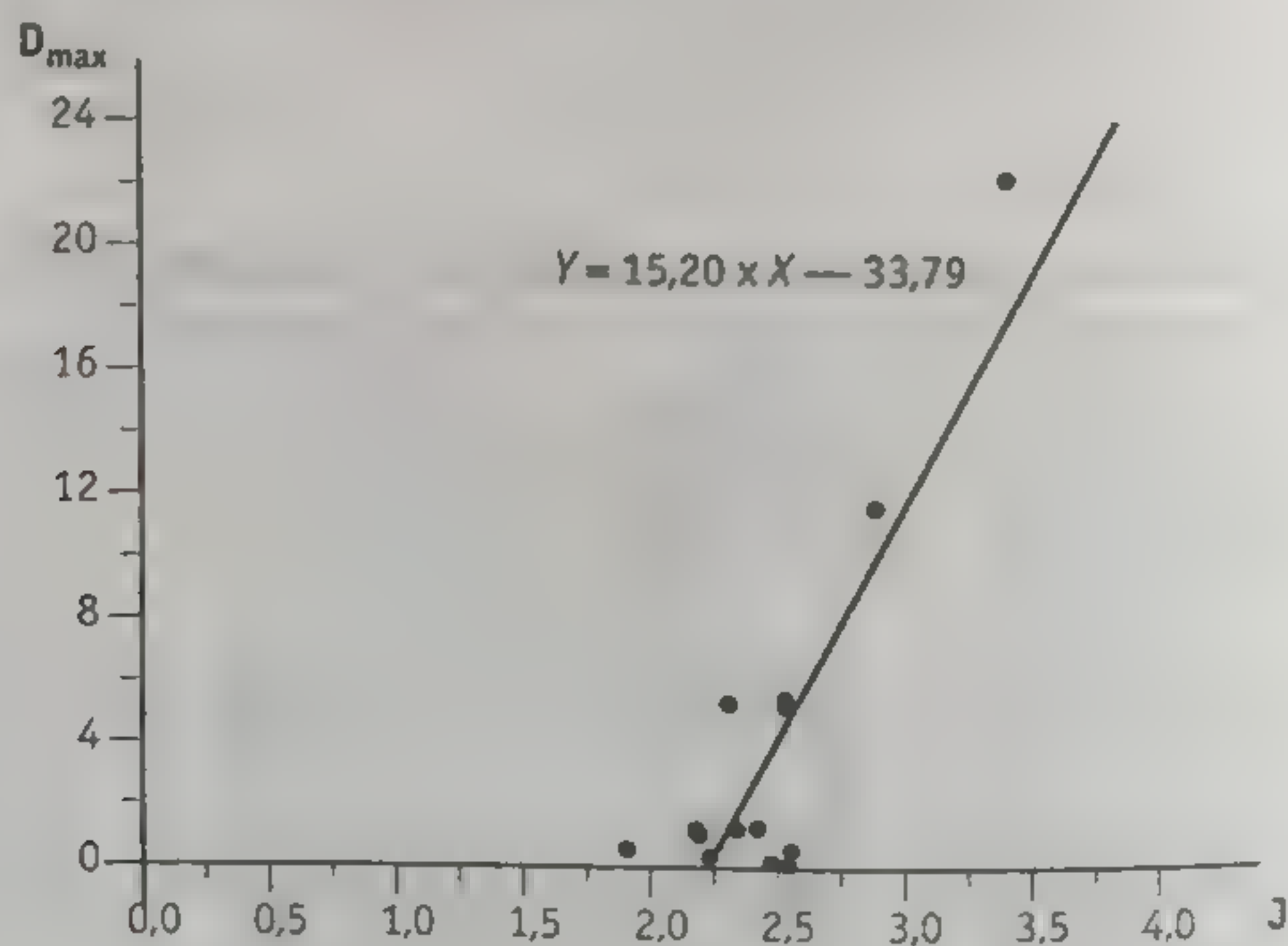
$$\rho_{y,x} = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} = \frac{14 \times 161,86 - 34,772 \times 55,57}{14 \times 87,931 - (34,772)^2} = 15,20$$

$$b = \frac{\sum x^2 \sum y - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} = \frac{87,931 \times 55,57 - 34,772 \times 161,86}{14 \times 87,931 - (34,772)^2} = -33,79$$

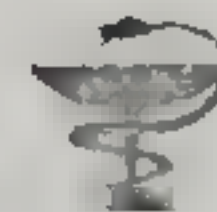
Выборочное уравнение прямой линии регрессии «максимальная суточная доза (Y)» на «топологический индекс (X)»:

$$Y = \rho_{y,x} \times X + b = 15,20 \times X - 33,79$$

График зависимости  $D_{max}$  от J:







Заня-  
тие

Ответы

Задание 3

Таблица 4

Данные для расчета выборочных средних квадратических отклонений

$x_i$	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$y_i$	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$
$x_1 = 3,392$	0,91	0,83	$y_1 = 22,20$	18,23	332,33
$x_2 = 2,899$	0,42	0,18	$y_2 = 11,63$	7,66	58,67
$x_3 = 2,553$	0,07	0,005	$y_3 = 5,43$	1,46	2,13
$x_4 = 2,203$	-0,28	0,08	$y_4 = 1,14$	-2,83	8,01
$x_5 = 2,553$	0,07	0,005	$y_5 = 5,18$	1,21	1,46
$x_6 = 2,328$	-0,15	0,02	$y_6 = 5,26$	1,29	1,66
$x_7 = 1,933$	-0,55	0,30	$y_7 = 0,47$	-3,5	12,25
$x_8 = 2,362$	-0,12	0,01	$y_8 = 1,18$	-2,79	7,78
$x_9 = 2,256$	-0,22	0,05	$y_9 = 0,28$	-3,69	13,62
$x_{10} = 2,215$	-0,26	0,07	$y_{10} = 0,98$	-2,99	8,94
$x_{11} = 2,500$	0,02	0,00	$y_{11} = 0,09$	-3,88	15,05
$x_{12} = 2,563$	0,08	0,006	$y_{12} = 0,03$	-3,94	15,52
$x_{13} = 2,575$	0,09	0,008	$y_{13} = 0,47$	-3,5	12,25
$x_{14} = 2,440$	-0,04	0,001	$y_{14} = 1,23$	-2,74	7,50
		$\Sigma(x_i - \bar{x})^2 = 1,56$			$\Sigma(y_i - \bar{y})^2 = 497,17$

Выборочные средние:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} = \frac{34,772}{14} = 2,48$$

$$\bar{y} = \frac{\sum y_i}{n} = \frac{55,57}{14} = 3,97$$

Выборочные средние квадратические отклонения:

$$S_x = \sqrt{\frac{\Sigma(x_i - \bar{x})^2}{n}} = \sqrt{\frac{1,56}{14}} = 0,33$$

$$S_y = \sqrt{\frac{\Sigma(y_i - \bar{y})^2}{n}} = \sqrt{\frac{497,17}{14}} = 5,96$$

Выборочный коэффициент корреляции  $r_B$ :

$$r_B = \frac{\sum xy - n\bar{x}\bar{y}}{nS_xS_y} = \frac{161,86 - 14 \times 2,48 \times 3,97}{14 \times 0,33 \times 5,96} = \frac{24,02}{27,53} = 0,87$$



Заня-  
тие

## Ответы

*Вывод*

Теснота линейной корреляционной зависимости максимальной суточной дозы нестероидных противовоспалительных средств от топологического индекса Балабана близка к линейной.

17

## Ответы на вопросы итогового теста

1 — с

2 — а, b, d

3 — а, b, с, e, f, g

4 — а, d, f

5 — а, b, e

6 — b, с, e

7 — d, e

8 — а, с

9 — Федеральный закон

«О наркотических средствах и психотропных веществах»

10 — ...наркотических средств и психотропных веществ ... запрещен

11 — .... наркотических средств и психотропных веществ ... ограничен (государственная монополия)

12 — прекурсоров ... ограничен

18

## Ответы на вопросы итогового теста

1 — b

2 — b

3 — а, d

4 — с, f

5 — b

6 — b, d, e

7 — а

8 — b, d

9 — d, e

10 — b

19

## Ответы на вопросы итогового теста

1 — а

2 — b

3 — а, b, с, d

4 — а

5 — b

6 — а, b, e

7 — b, с, d

8 — а, b, с, d, e

9 — d

20

## Ответы на вопросы теста «Безопасность лекарственных токсикантов»

1 — с

2 — b, с, d, e

3 — а, b, d

4 — b

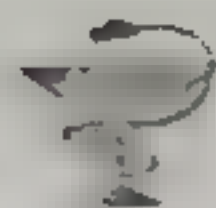
5 — а, b

6 — b, с

7 — с

8 — с





Заня-  
тие

Ответы

Ответы на вопросы итогового теста

1 — a, b, d, e

2 — a, b, e

3 — b, c, d, f, g

4 — a, c, d

5 — a, c, d

6 — терапевтический индекс... животные...  $DE_{50}$  — доза, дающая терапевтический эффект у 50% животных, определяется опытным путем.  $DL_{50}$  — доза, вызывающая гибель 50% животных, определяется опытным путем.

7 — Коэффициент пересчета дозы — отношение массы и площади поверхности тела человека к этим параметрам экспериментального животного. Используется при пересчете дозы с экспериментального животного на человека, т.к. интенсивность окислительных процессов, следовательно, скорость метаболизма лекарственных веществ зависит от размеров млекопитающих и отношения площади поверхности тела к массе тела.

21 Ответы на вопросы входного теста

1 — b

2 — b, d, e

3 — a, d, e

4 — b

5 — d, e

6 — d

7 — a, c

8 — b, c

9 — a, c, d

10 — a, b, c, d

22 Ответы на вопросы входного теста

1 — 1-c, 2-a, 3-b, 4-d, 5-f, 6-e, 7-g

2 — 1-b, f, o; 2-a, c, e, g, h, j, k, l, m, n; 3-d, i; 4-a, g, h; 5-g, l, m

3 — 1-a, b, g; 2-d, e, k, h; 3-d, e, k; 4-h; 5-i, j; 6-c; 7-f, l

4 — d, e

5 — a, c, e

6 — a, b, c, e

7 — b, d, e

8 — b, c, d

9 — c

10 — a

11 — a

12 — b, d, f

13 — a, c, e, f

14 — d, e

15 — a, d

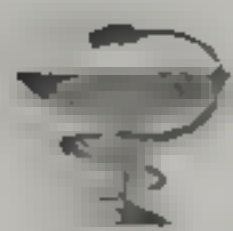
16 — c

17 — b, d

18 — c

19 — a, c





Заня- тие	Ответы	
23	Ответы на вопросы входного теста	
	1 — a, b, e	7 — a
	2 — d, e	8 — d
	3 — a, d	9 — b
	4 — a	10 — a, b, d
	5 — b	11 — c, d
	6 — b, c, e	12 — d
24	Ответы на вопросы входного теста	
	1 — b, c	6 — a, b, c, d, e
	2 — a, b, d	7 — a, c
	3 — a, c, e	8 — a, d, e
	4 — d	9 — b, e
	5 — b, e	
25	Ответы на вопросы входного теста	
	1 — a, d, e	6 — a, c
	2 — b, c	7 — c, e
	3 — c	8 — c
	4 — b, c, e	9 — c, d
	5 — e	10 — a, e
26	Ответы на вопросы входного теста	
	1 — a, c, d	4 — b
	2 — b	5 — a, b, e
	3 — a	6 — a
27	Ответы на вопросы входного теста	
	1 — b	6 — a, b
	2 — b, c	7 — c, d
	3 — a, b, d	8 — d, e
	4 — b, c, e	9 — b, c, d
	5 — b, d	
28	Ответы на вопросы теста	
	1 — a, d, e	5 — b, d, e, f
	2 — a, c	6 — a
	3 — b	7 — a
	4 — c	8 — b





Заня-  
тие

Ответы

9 — c	14 — c, d
10 — c, f	15 — c
11 — 1-d, 2-a, 3-b, 4-c	16 — a, b, c, d, e
12 — a	17 — 1-e, f; 2-c; 3-a;
13 — b	4-d; 5-g; 6-b; 7-h

29 Решение к задаче 1

Плотность потока нейтронов  $I(r)$  на расстоянии  $r$  источника определяется соотношением:

$$I(r) = S/4\pi r^2. (1)$$

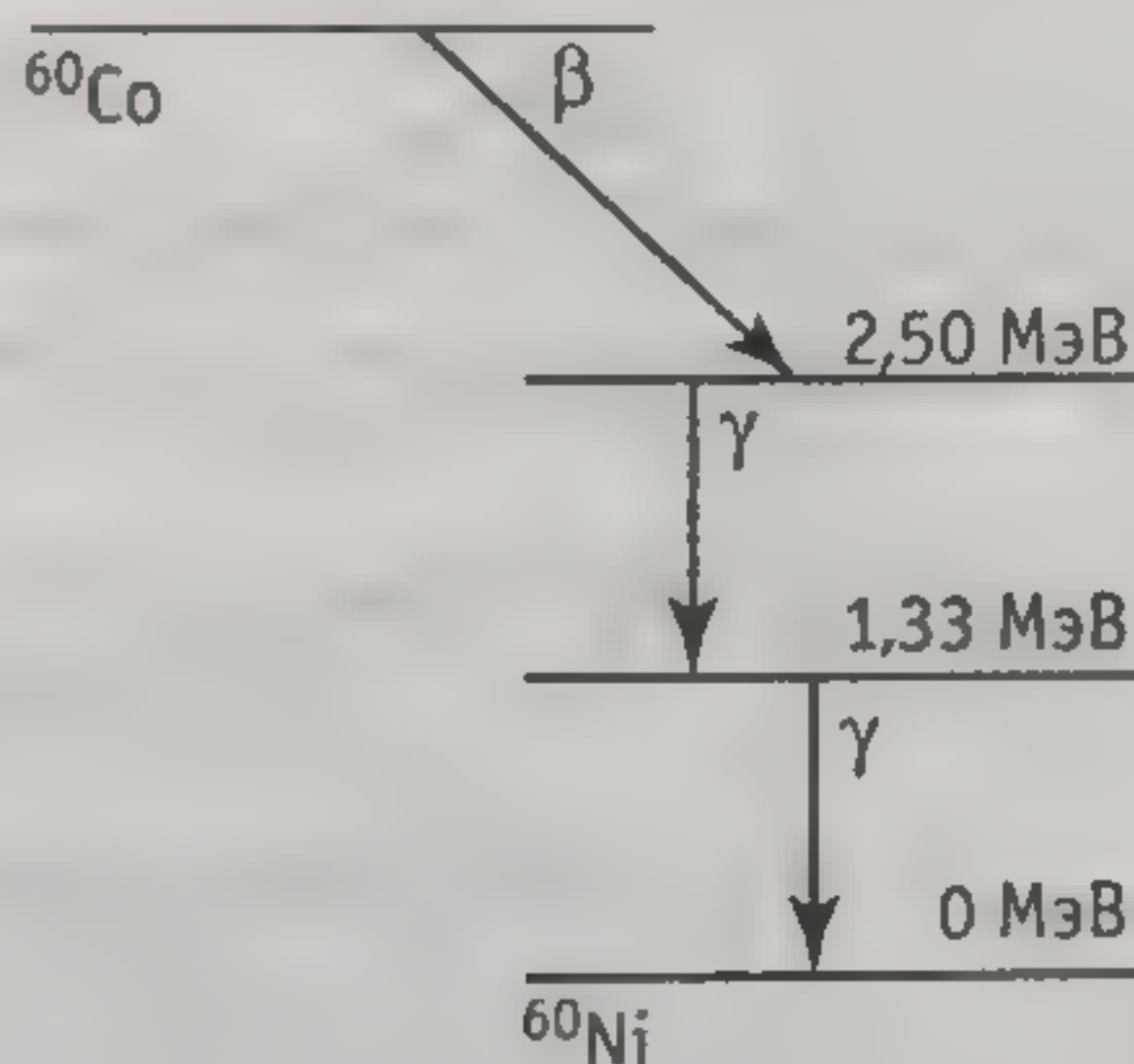
Минимальное безопасное расстояние из соотношения (1):

$$R_{\min} = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{S}{\pi I_0}} = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{3 \cdot 10^6}{20\pi}} = 109 \text{ см.}$$

Решение к задаче 2

При распаде  $^{60}\text{Co}$  образуется 2  $\gamma$ -кванта с энергией 1,33 и 1,17 МэВ. Каждая такая пара фотонов выделит в тканях человека

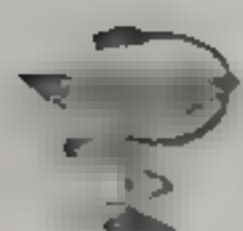
$$(1,33 + 1,17) \cdot 0,4 = 1 \text{ МэВ} = 1,3 \cdot 10^{-13} \text{ Дж.}$$



Для человека массой тела 75 кг поглощенная доза от одной пары фотонов составит

$$\frac{1,3 \cdot 10^{-13} \text{ Дж}}{75 \text{ кг}} = 2,13 \cdot 10^{-15} \text{ Гр.}$$



Заня-  
тие

Ответы

При получении дозы 100 Гр число фотонов, попавших в организм, составит

$$2 \frac{100}{2,13 \cdot 10^{-15}} = 9,4 \cdot 10^{16}.$$

Решение к задаче 3

$E = 1,74$  МэВ, масса тела человека  $M = 70$  кг,  $\epsilon = 0,1$ .

На один акт распада  $^{90}\text{Sr}$  приходится 1 фотон с энергией 1,74 МэВ, откуда для поглощенной человеком мощности дозы  $D_t$  получим:

$$D_t = \frac{270 \cdot 10^{-6} \cdot 1,74 \cdot 1,6 \cdot 10^{-13} \cdot 10^{-1}}{70} = 10^{-5} \text{ рад/с}$$

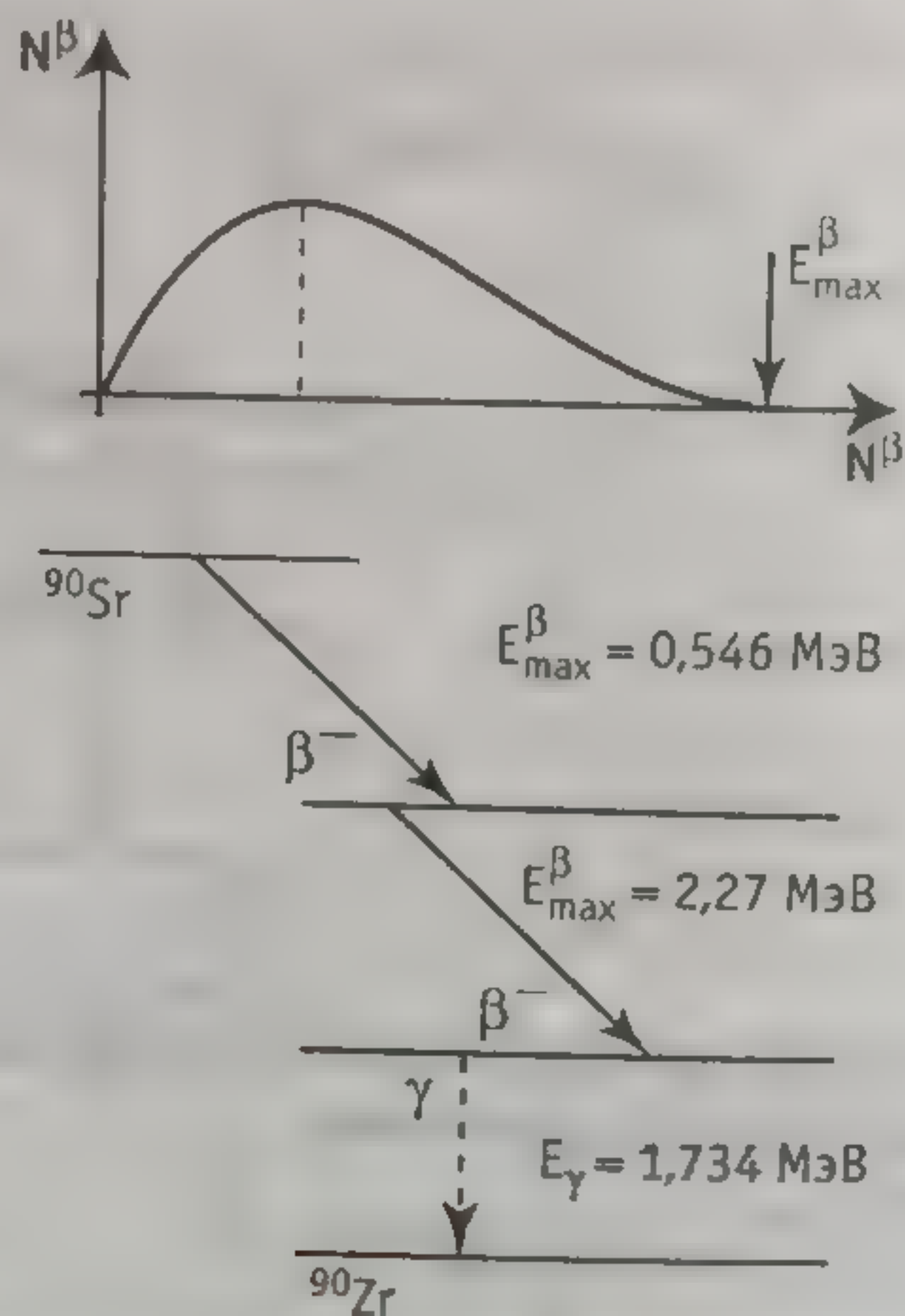
Предельно допустимая доза (ПДД) — 0,1 рад/с.

Работать опасно!!!

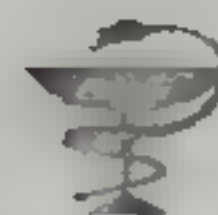
Решение к задаче 4

1) Средние энергии  $\beta$ -распада составляют  $\approx 0,3 - 0,4$  от  $E_{\text{max}}^{\beta}$ .

В расчете возьмем 0,4







Занятие

Ответы

2) Будем считать, что в организме поглощается 10% фотонов. Общее количество энергии, поглощенной в организме от одного распада,  $Q = (0,546 + 2,27) \cdot 0,4 + 1,734 \cdot 0,1 = 1,3 \text{ МэВ} = 1,3 \cdot 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ Дж} = 2,08 \cdot 10^{-13} \text{ Дж}$  ( $1 \text{ МэВ} = 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ Дж}$ )

Согласно таблице доля радионуклида  $^{90}\text{Sr}$ , поглощенная костной тканью, составляет  $0,94 \text{ Бк} \cdot 0,7 = 0,66 \text{ Бк}$  или  $5,68 \cdot 10^4$  распадов в сутки (в сутках 86 400 с).

Элемент	Наиболее чувствительный орган или ткань в организме	Масса вещества или органа, кг	Доля полной дозы, полученная данным органом
Sr	Кость	7	0,7

Таким образом, в сутки костная ткань поглощает

$$Q = 2,08 \cdot 10^{-13} \text{ Дж} \cdot 5,68 \cdot 10^4 = 11,8 \text{ Дж}$$

Доза, поглощенная в год:

$$365 \cdot 1,88 \cdot 10^{-9} \text{ Дж} = 4,3 \cdot 10^{-6} \text{ Дж}$$

Доза, поглощенная за год в 1 кг костной ткани:

$$\frac{4,3 \cdot 10^{-6} \text{ Дж}}{7 \text{ кг}} = 0,6 \cdot 10^{-6} \frac{\text{Дж}}{\text{кг}} = 0,6 \cdot 10^{-6} \text{ Гр.}$$

Решение к задаче 5

Какое количество изотопов  $^{55}\text{Fe}$  распалось за 10 лет?

$$J = J_0 e^{\frac{0,69t}{T_{1/2}}} = J_0 e^{-0,239t} = J_0 e^{-2,39} = 0,926$$

Из 10 мг за 10 лет распалось  $10 - 0,926 = 9,074 \text{ мг}$

Число распавшихся ядер:

$$\frac{9,074 \times 10^{-3}}{55} \times 6,023 \times 10^{23} = 0,99 \times 10^{20}.$$

Количество выделившейся энергии:

$$Q = 0,22 \cdot 0,99 \cdot 10^{20} = 2,19 \cdot 10^{19} \text{ МэВ} = 3,50 \cdot 10^6 \text{ Дж.}$$

Чтобы найти энергию, отнесенную к единице массы, предположим, что облучается примерно 1/3 часть тела массой 75 кг, т.е. 25 кг. Тогда:



Заня-  
тие

Ответы

$$\frac{3,5 \times 10^6 \text{ Дж}}{25 \text{ кг}} = 0,14 \times 10^6 \frac{\text{Дж}}{\text{кг}} = 0,14 \times 10^6 \text{ Гр} = 0,14 \times 10^8 \text{ рад.}$$

Это очень большая доза!!!

### Решение к задаче 6

Наибольшее количество радионуклида  $^{90}\text{Sr}$  поглощается в костях. Масса вещества кости  $M$  составляет 7 кг; доля полной полученной дозы составляет  $\varepsilon = 0,7$ . Поэтому полная энергия, выделенная в организме за год, будет составлять:

$$E = \frac{DM}{\varepsilon} = \frac{1 \times 10^{-3} \times 7}{0,7} = 10^{-2} \text{ Дж.}$$

Доля ядер радионуклида  $^{90}\text{Sr}$ , распадающаяся за год:

$$K = \frac{N}{N_0} = \left( 1 - e^{-\frac{0,693}{T_{1/2}}} \right) = \left( 1 - e^{-\frac{0,693}{28}} \right) = 2,5 \times 10^{-2}.$$

Используя схему распада радиоактивного изотопа  $^{90}\text{Sr}$ , получим энергию, выделяющуюся в костях на один акт распада:

$$E^* = 0,1 \cdot E_\gamma + 0,4 E_{\beta_{\max}}^{\beta} = 0,1 \cdot 1,0734 + 0,4 \cdot (0,54 + 2,27) = 1,29 \text{ МэВ} = 2,06 \cdot 10^{13} \text{ Дж.}$$

Полное число ядер изотопа:

$$N_0 = \frac{10^{-2}}{2,06 \times 10^{-13} \times 2,5 \times 10^{-2}} = 2 \times 10^2.$$

### Решение к задаче 7

Число радиоактивных ядер в 100 мкг изотопа  $^{239}\text{Pu}$ :

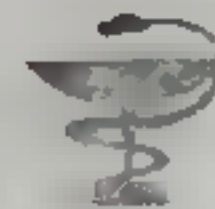
$$N_0 = \frac{100 \times 10^{-6} \times 6 \times 10^{23}}{239} = 2,5 \times 10^{17}.$$

Число ядер  $^{239}\text{Pu}$ , распавшихся за 10 лет:

$$N = N_0 \left( 1 - e^{-\frac{0,693t}{T_{1/2}}} \right) = 2,5 \times 10^{17} \left( 1 - e^{-\frac{0,693 \times 10}{2,4 \times 10^4}} \right) = 0,75 \times 10^{14}.$$

Распад  $^{239}\text{Pu}$  приводит к появлению трех  $\alpha$ -линий при энергиях  $E_\alpha$  и с вероятностями распада, указанными в таблице.





Заня-  
тие

Ответы

$E_\alpha$ , МэВ	$P_\alpha$ , %
5,107	11,5
5,145	15,1
5,157	78,3

$\bar{E}_\alpha = 5,1$  МэВ. Масса тела  $M = 70$  кг. Поглощенная доза:

$$D = \frac{\bar{E}_\alpha}{M} = \frac{5,1 \times 0,75 \times 10^{14} \times 1,6 \times 10^{-13}}{70} = 0,87 \text{ Гр.}$$

Решение к задаче 8

Период полураспада  $^{239}\text{Pu}$   $T_{1/2} = 2,4 \cdot 10^4$  лет. Средняя энергия  $\alpha$ -частиц распада  $\bar{E}_\alpha \approx 5$  МэВ. Масса легких  $M_\lambda = 0,5$  кг. Число актов распада  $^{239}\text{Pu}$  за время  $dt$ :

$$dNp(t) = \lambda N(t)dt, (1)$$

где  $N(t)$  — число ядер  $^{239}\text{Pu}$  в момент времени  $t$ .

Изменение числа ядер  $^{239}\text{Pu}$  с учетом накопления и распада:

$$dN(t) = V_0 n \epsilon dt - \lambda N(t)dt, (2)$$

Учитывая, что вследствие большого периода полураспада вторым членом в (2) можно пренебречь, после интегрирования (2) получим:

$$N(t) = V_0 n \epsilon t.$$

Из (3) и (1) получим число ядер, распавшихся за время  $t$ :

$$dNp(t) = \lambda V_0 n \epsilon dt.$$

$$Np(t) = \frac{\lambda V_0 n \epsilon t^2}{2}.$$

Энергия  $E$ , поглощенная в ткани легких за год:

$$E = D m_\lambda = 1,7 \cdot 10^{-6} \cdot 0,5 = 8,5 \cdot 10^{-7} \text{ Дж.}$$

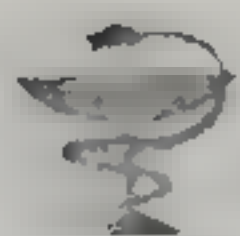
Число распадов ядер, необходимое для выделения энергии  $E$ :

$$N = \frac{E}{\bar{E}_\alpha \times 1,6 \times 10^{-13}} = \frac{8,5 \times 10^{-7}}{5 \times 1,6 \times 10^{-13}} = 1,06 \times 10^6.$$

Из (4) получим концентрацию  $^{239}\text{Pu}$  в воздухе:

$$n = \frac{2N}{\lambda V_0 \epsilon t^2} = \frac{2,12 \times 10^6}{5,5 \times 10^{-11} \times 6 \times 10^{-2} (5,3 \times 10^5)^2} = 2,3 \times 10^6 \frac{\text{ядер}}{\text{л}}.$$





## Ответы к тестам и задачам

Заня-  
тие

Ответы

### Ответы на вопросы итогового теста

1 — b

2 — a

3 — a, b, e

4 — c

5 — b, c, e

6 — f

7 — a

8 — c, e

9 — c

10 — 1-e, f, g; 2-a, b, c,  
d, h

11 — b



## ПРИЛОЖЕНИЯ

### V Приложения к занятию 1

Приложение 1.1. Организационные структуры клинико-токсикологического, наркологического и судебно-химического направлений токсикологической химии

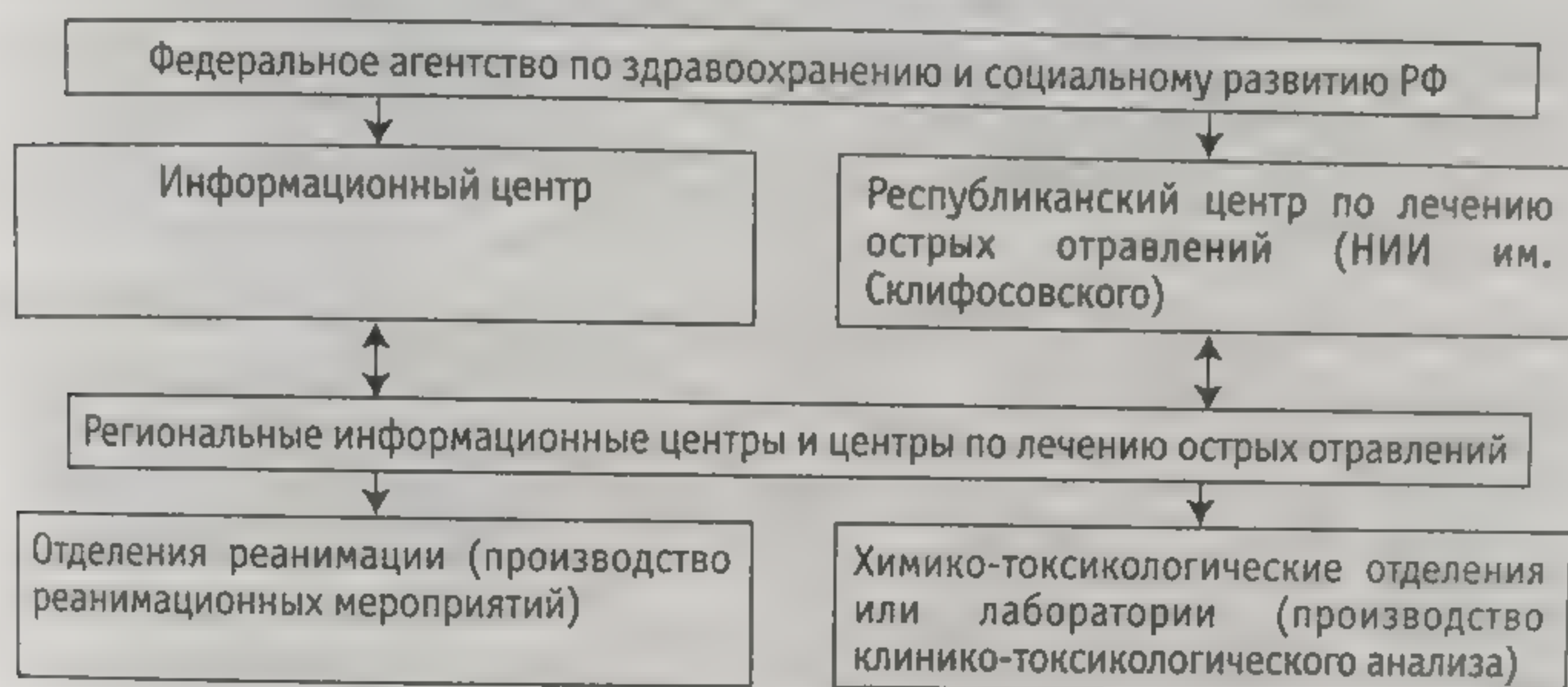


Рис. 1.1. Организационная структура клинико-токсикологического направления токсикологической химии в РФ

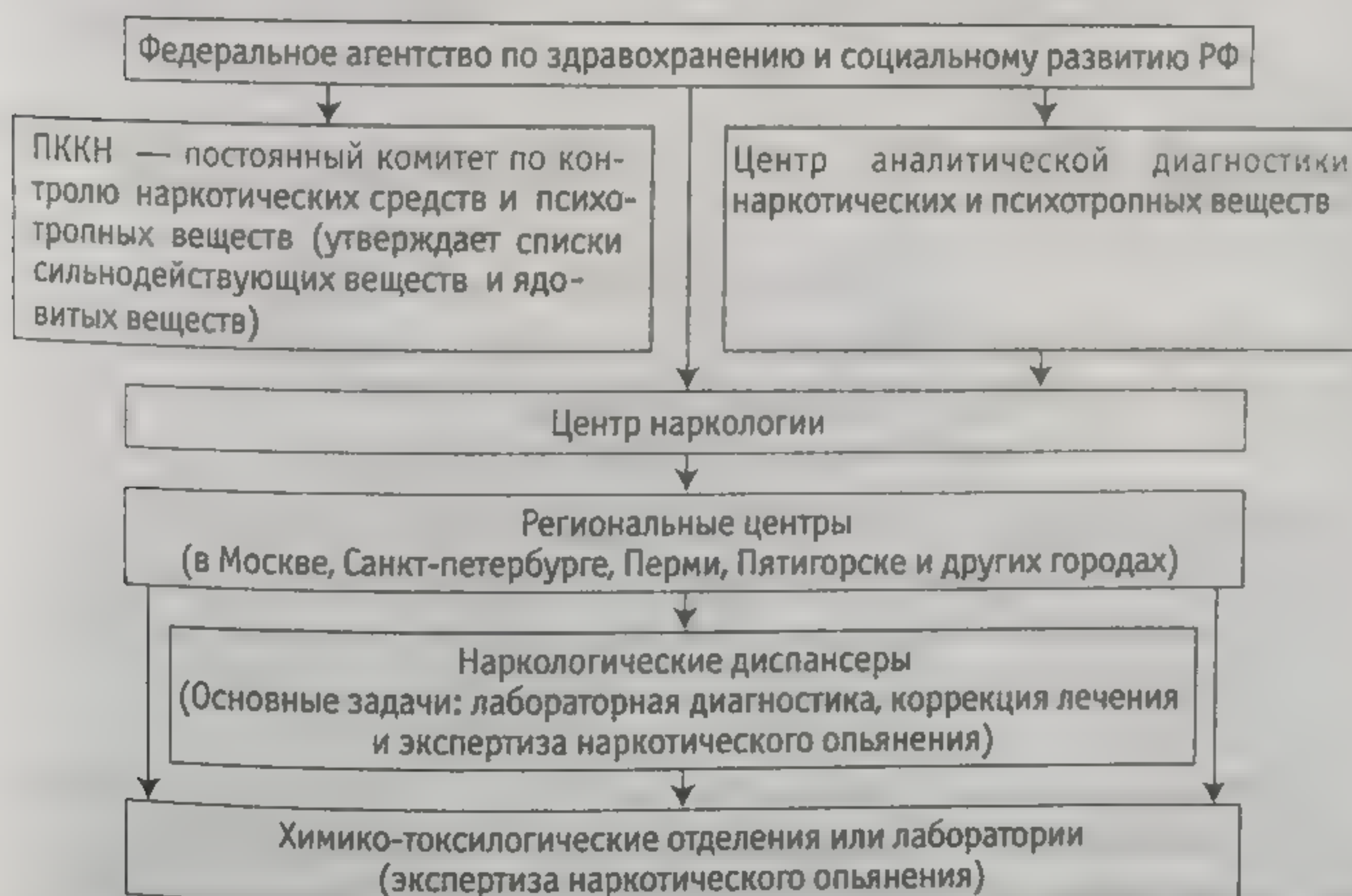


Рис. 1.2. Организационная структура наркологического направления токсикологической химии в России



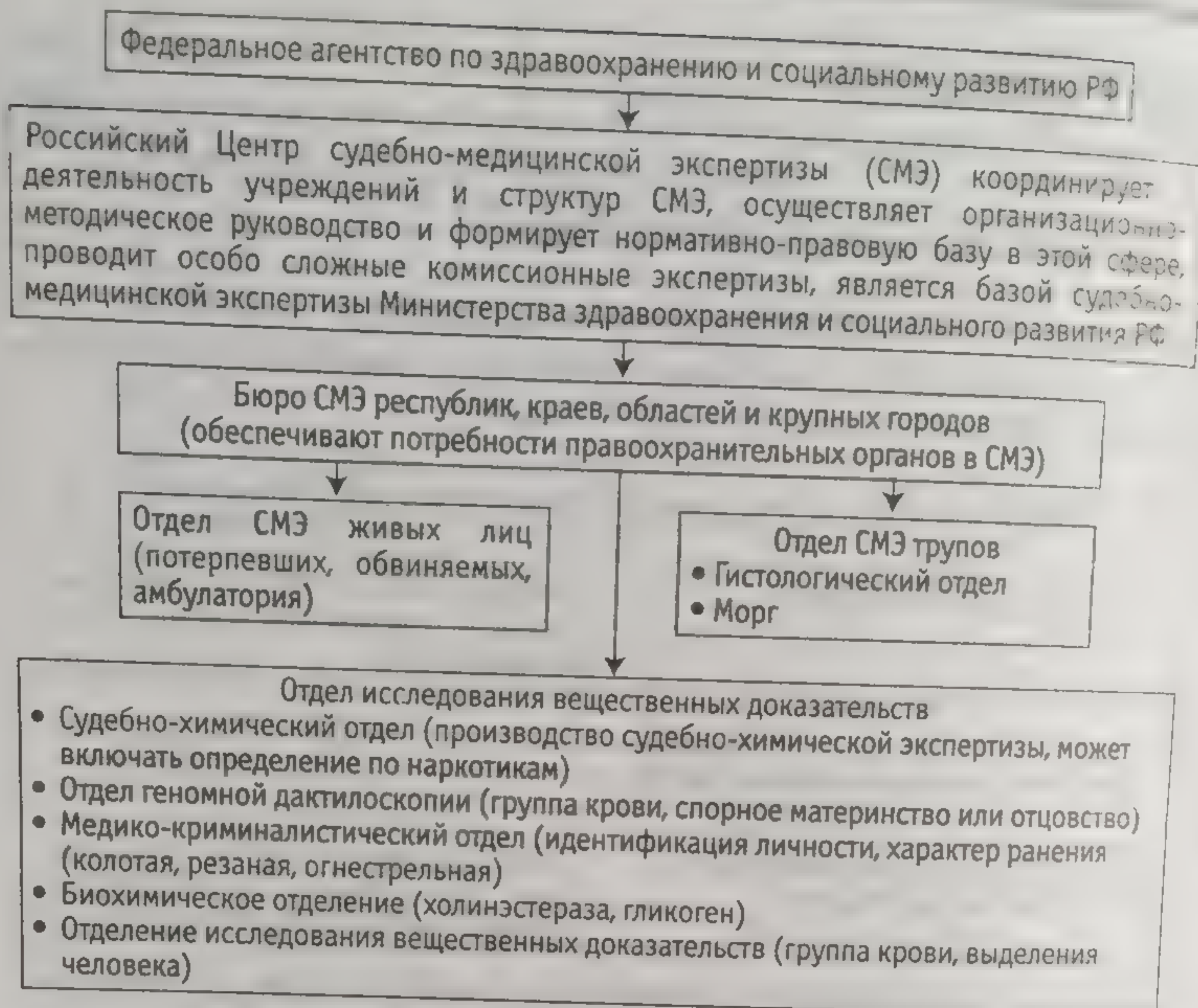


Рис. 1.3. Организационная структура судебно-медицинского направления аналитической токсикологии в России

## Приложение 1.2

### Извлечение из приказа Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 27 января 2006 г. № 40

«Об организации проведения химико-токсикологических исследований при аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ»

В целях совершенствования порядка проведения химико-токсикологических исследований при аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических





веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов, приказываю:

1. Утвердить:

1.1. Положение об организации работы химико-токсикологической лаборатории наркологического диспансера (наркологической больницы) согласно приложению № 1.

1.2. Рекомендации по организации работы по отбору, транспортировке и хранению биологических объектов для проведения химико-токсикологических исследований на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов согласно приложению № 2.

1.3. Рекомендуемый перечень оборудования и вспомогательных материалов для химико-токсикологической лаборатории наркологического диспансера (наркологической больницы) согласно приложению № 3.

1.4. Рекомендуемый перечень необходимых реактивов для химико-токсикологической лаборатории наркологического диспансера (наркологической больницы) согласно приложению № 4.

1.5. Учетную форму № 450/у-06 «Журнал регистрации отбора биологических объектов» согласно приложению № 5.

1.6. Инструкцию по заполнению учетной формы № 450/у-06 «Журнал регистрации отбора биологических объектов» согласно приложению № 6.

1.7. Учетную форму № 452/у-06 «Направление на химико-токсикологические исследования» согласно приложению № 7.

1.8. Инструкцию по заполнению учетной формы № 452/у-06 «Направление на химико-токсикологические исследования» согласно приложению № 8.

1.9. Учетную форму № 451/у-06 «Справка о доставке биологических объектов на химико-токсикологические исследования» согласно приложению № 9.

1.10. Инструкцию по заполнению учетной формы № 451/у-06 «Справка о доставке биологических объектов на химико-токсикологические исследования» согласно приложению № 10.

1.11. Учетную форму № 454/у-06 «Справка о результатах химико-токсикологических исследований» согласно приложению № 11.

1.12. Инструкцию по заполнению учетной формы № 454/у-06 «Справка о результатах химико-токсикологических исследований» согласно приложению № 12.





1.13. Учетную форму № 453/у-06 «Журнал регистрации результатов химико-токсикологических исследований» согласно приложению № 13.

1.14. Инструкцию по заполнению учетной формы № 453/у-06 «Журнал регистрации результатов химико-токсикологических исследований» согласно приложению № 14.

1.15. Отчетную форму № 59 «Отчет о работе химико-токсикологической лаборатории наркологического диспансера (наркологической больницы)» согласно приложению № 15.

1.16. Инструкцию по заполнению отчетной формы № 59 «Отчет о работе химико-токсикологической лаборатории наркологического диспансера (наркологической больницы)» согласно приложению № 16.

## 2. Установить, что:

— организационно-методическое и научно-исследовательское обеспечение химико-токсикологических исследований при аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов осуществляется Центральной химико-токсикологической лабораторией при кафедре аналитической и судебно-медицинской токсикологии факультета последипломного профессионального образования провизоров Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию;

— подготовка и повышение квалификации специалистов по аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов осуществляется кафедрой аналитической и судебно-медицинской токсикологии факультета последипломного профессионального образования провизоров Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию.

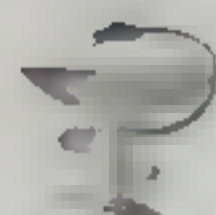
Министр

М.Ю. Зурабов

Зарегистрировано в Минюсте России 26 февраля 2006 г.

Регистрационный № 7544





### Приложение 1.3. Порядок производства судебно-химической экспертизы (СХЭ)

Профессиональная деятельность судебно-медицинского эксперта при производстве экспертизы регламентирована соответствующими статьями УПК РФ (ст. 57) и приказом МЗ России от 24.04.03 № 161 «Об утверждении инструкции по организации и производству экспертных исследований в Бюро судебно-медицинской экспертизы».

В соответствии с этими документами судебно-медицинский эксперт может знакомиться с материалами, относящимися к предмету экспертизы, заявлять ходатайство о предоставлении дополнительных материалов, с разрешения лица, производящего дознание, следователя, прокурора или суда присутствовать при производстве допросов и других следственных и судебных действий и задавать допрашиваемым лицам вопросы, относящиеся к предмету экспертизы.

В компетенцию судебно-медицинской экспертизы входит экспертиза:

- трупов в случаях насильственной смерти;
- потерпевших для определения тяжести вреда здоровью;
- по материалам уголовных и гражданских дел.

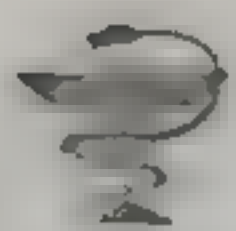
Признав необходимость СХЭ, следователь составляет постановление органов дознания, в котором указывает основание для проведения экспертизы, фамилию эксперта или наименование учреждения, в котором должна быть произведена экспертиза, перечисляет вопросы, стоящие перед экспертом, и указывает материалы, предоставляемые в распоряжение эксперта.

До назначения эксперта следователь выясняет необходимые данные о его специальности и компетентности. Кроме того, следователь обязан ознакомить обвиняемого с постановлением о назначении экспертизы (в этом случае составляется протокол, подписываемый обвиняемым и следователем) и ответственностью по ст. 57 УПК РФ и ст. 307 УК РФ.

Основанием для производства СХЭ при исследовании внутренних органов, тканей и биологических жидкостей трупов является письменное направление судмедэксперта.

СХЭ биологических жидкостей, выделений человека, смывов с поверхностей кожи при подозрении на отравление или немедицинское потребление наркотических и других психоактивных веществ производят по направлениям врачей наркологических диспансеров и других медицинских учреждений.





Таким образом, вместе с вещественными доказательствами на судебно-химическую экспертизу направляют:

- постановление органов дознания или следствия о назначении экспертизы или определение суда;
- выписку из акта судебно-медицинского исследования трупа;
- копию карты стационарного больного;
- при повторных экспертизах направляют заверенную копию первичного «Акта судебно-химического исследования» (или «Заключение эксперта»).

Эксперт судебно-химического отдела знакомится со всеми сопроводительными документами и поступившими на исследование объектами. Все данные о вещественных доказательствах заносятся в регистрационный журнал и рабочий журнал. Экспертиза от начала и до конца должна проводиться одним лицом.

В п. 1.1 специальной части документа «Правила производства экспертизы вещественных доказательств в судебно-химических отделениях...» 1996 г. оговорено, что судебно-химическая экспертиза должна быть начата в день поступления объектов в лабораторию.

Согласно п. 11.1.1 при подозрении на отравление ядовитым веществом направляют комплекс внутренних органов: желудок с содержимым, один метр тонкой кишки из наиболее измененных отделов, одну треть печени, одну почку, а также всю мочу и не менее 200 мл крови. Каждый орган, кровь, мочу помещают в отдельные чистые и сухие стеклянные банки.

В судебно-химических отделениях для обнаружения токси-кантов вещественные доказательства биологического происхождения (внутренние органы, части трупов, выделения человеческого организма и т.п.), подвергающиеся гниению, хранятся в течение одного года (п. 6.8).

Изъятие других органов и тканей из трупа, включая и ткань головного мозга, не является обязательным, и эти материалы могут быть изъяты экспертом дополнительно.

Для консервации биологического материала, изъятых из трупа для производства судебно-химического исследования, следует применять этиловый спирт. Объекты исследования консервируют только при подозрении на отравление сердечными гликозидами, производными фенотиазина, фосфорорганическими пестицидами, алкалоидами и трициклическими антидепрессантами. С этой целью используют спирт-ректификат, уровень которого над внутренними органами в банках должен быть высотой не менее 1 см.





Одновременно в судебно-химическое отделение направляют контрольную пробу спирта в количестве 300 мл, взятую из той же тары, что и для консервирования (п. 11.1.11).

Перед СХЭ составляется план, в котором указываются метод исследования, методики и регламентируется расход анализируемого материала.

Результаты всей судебно-медицинской экспертизы оформляются в виде документа, который именуется «Заключение эксперта». Судебно-медицинское исследование оформляется как документ, именуемый «Акт судебно-медицинского исследования (освидетельствования)». Оба документа имеют одинаковую структуру и состоят из вводной части, включающей краткое изложение обстоятельств дела, исследовательской части и завершающей части: выводов — для «Заключения эксперта» или заключения — для «Акта судебно-медицинского исследования (освидетельствования)» («Инструкция о производстве судебно-медицинской экспертизы»). Содержание «Заключения эксперта» регламентируется Приказом № 161 МЗ РФ, а также ст. 195–207 «Производство судебной экспертизы» Уголовно-процессуального кодекса (УПК) РФ.

#### Приложение 1.4. Акт судебно-медицинского (судебно-химического) исследования (образец)

Код формы по ОКУД \_\_\_\_\_

Код учреждения по ОКПО \_\_\_\_\_

Министерство здравоохранения РСФСР

Медицинская документация

Наименование учреждения

Форма № 175/у

Адрес:

Утверждено Минздравом СССР

4.10.1980 г. № 1030

### АКТ

судебно-медицинского (судебно-химического) исследования\*

№ \_\_\_\_\_

На основании \_\_\_\_\_

от « \_\_\_\_\_ » 20 \_\_\_\_\_ г. № \_\_\_\_\_ в \_\_\_\_\_ отделе-  
нии судебно-медицинской лаборатории бюро судебно-медицинской  
экспертизы \_\_\_\_\_ обл. (край) здравотдела, Ми-





## Приложения

Министерства здравоохранения \_\_\_\_\_ ССР (АССР)  
судебно-медицинским(и) экспертом(ами), экспертом(ами)-хими-  
ком(ами) отделения \_\_\_\_\_

должность, фамилия, и., о., специальность, стаж

\_\_\_\_\_ категория, ученая степень и звание

произведено исследование \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ перечень объектов, их количество

по поводу \_\_\_\_\_

Исследование начато \_\_\_\_\_

Исследование закончено \_\_\_\_\_

Вопросы, подлежащие разрешению при исследовании, и другие  
разделы «Акта судебно-медицинского (судебно-химического) ис-  
следования» излагаются на следующих \_\_\_\_\_ листах.

\* Акт судебно-медицинского (судебно-химического) исследования составлен  
ется при отсутствии постановлений органов внутренних дел, прокуратуры, оп-  
ределения суда.

V

При  
для

D

Прил  
отрав

KMnO<sub>4</sub>  
CuSO<sub>4</sub>  
HNO<sub>3</sub>  
Соеди  
Солян

Прило  
от боли

HCN, H<sub>2</sub>S  
Летучи  
PH<sub>3</sub>, H



## V Приложения к занятию 2

**Приложение 2.1. Среднесмертельные дозы ксенобиотиков для крыс (пероральное или внутрибрюшинное введение)**

Токсический агент	DL <sub>50</sub> , мг/кг
Этанол	10 000
Хлорид натрия	4000
Сульфат железа (II)	1500
Морфина сульфат	900
Фенобарбитал натрия	150
Стрихнина сульфат	2
Никотин	1
D — тубокураринхлорид	0,5
Диоксин (TCDD)	0,001
Ботулический токсин	0,00001

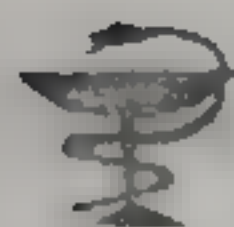
**Приложение 2.2. окраска рвотных масс при острых отравлениях**

Токсикант	Окраска
KMnO <sub>4</sub>	Фиолетовая
CuSO <sub>4</sub>	Голубая
HNO <sub>3</sub> , тринитрофенол (пикриновая кислота)	Желтая
Соединения железа	Черная
Соляная кислота	Коричневая

**Приложение 2.3. Специфический запах, исходящий от больного при отравлении**

Токсикант	Запах
HCN, KCN	Горького миндаля
H <sub>2</sub> S	Тухлых яиц
Летучие гидриды p-элементов: PH <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> Se, H <sub>2</sub> Te, AsH <sub>3</sub>	Чеснока





Продолжение табл.

Токсикант	Запах
Пиперидин	Рыбы
Скипидар (в моче)	Фиалок
$\text{CHCl}_3$ , $\text{CHCl}=\text{CHCl}_2$ , $\text{CH}_3\text{Cl}$ , $\text{CH}_3-\text{CHOH}-\text{CH}_3$	Сладкий фруктовый

**Приложение 2.4. Перечень некоторых ксенобиотиков, вызывающих появление во рту «металлического привкуса»**

1. *Лекарственные средства*: эналоприл, метотрексат, препараты железа, препараты лития, метронидазол, тетрациклин, тетурам и др.

2. *Промышленные токсиканты*: неорганические и металлоорганические соединения Pb, Cu, Fe, Cd, I и др.

**Приложение 2.5. Патологические процессы в органе зрения при введении лекарственных средств**

Патологический процесс	Лекарственные средства
Воспаление конъюнктивы и роговицы	Пенициллины, левомецетин, стрептомицин
Нарушение цветоощущения	Левомецетин, сердечные гликозиды, верапамил, изониазид, сульфаниламидные препараты
Развитие катаракты	Глюкокортикоиды, имипрамин
Развитие миопии	Средства, вызывающие мидриаз
Повреждение сетчатки глаза	Хинин, препараты наперстянки, соли таллия
Атрофия зрительного нерва	Стрептомицин, изониазид, сульфаниламиды, хинин, метанол

**Приложение 2.6. Перечень некоторых лекарственных средств, вызывающих обратимые и необратимые нарушения слуха:** аминогликозиды (канамицин, стрептомицин и др.), противоопухолевые средства (цисплатин), толуол, ксилол, стиролы, хинин, фуросемид, салицилаты, угарный газ, соединения мышьяка, соединения ртути и др.

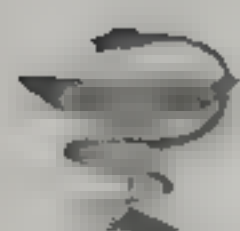


## V Приложения к занятию 5

### Приложение 5.1. Редокс-потенциалы некоторых эндогенных соединений

Полуреакции	E <sup>0</sup> В (вольт)
$\frac{1}{4}\text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	0,816
$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$	0,771
$\text{NO}_3^- + \text{e}^- \rightarrow \text{NO}_2^-$	0,421
Цитохром А ( $\text{Fe}^{3+}$ ) + $\text{e}^- \rightarrow$ Цитохром А ( $\text{Fe}^{2+}$ )	0,290
Цитохром С ( $\text{Fe}^{3+}$ ) + $\text{e}^- \rightarrow$ Цитохром С ( $\text{Fe}^{2+}$ )	0,254
Цитохром В ( $\text{Fe}^{3+}$ ) + $\text{e}^- \rightarrow$ Цитохром В ( $\text{Fe}^{2+}$ )	0,077
Цитохром F ( $\text{Fe}^{3+}$ ) + $\text{e}^- \rightarrow$ Цитохром F ( $\text{Fe}^{2+}$ )	0,365
$\frac{1}{2}$ Убихинон Q + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ Убихинон QH <sub>2</sub>	0,100
$\frac{1}{2}$ Фумарат + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ Сукцинат	0,031
$\frac{1}{2}$ Оксалоацетат + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ Малеат	-0,166
$\frac{1}{2}$ Пируват + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ Лактат	-0,185
$\frac{1}{2}$ Ацетальдегид + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ Этанол	-0,197
$\frac{1}{2}$ ФМН + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ ФМН H <sub>2</sub>	-0,219
$\frac{1}{2}$ ФАД + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ ФАД H <sub>2</sub>	-0,219
$\frac{1}{2}$ Глутатион (окисленный) + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ Глутатион (восстановленный)	-0,230
$\frac{1}{2}$ Липоевая кислота) + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ Дигидролипое- вая кислота	-0,290
$\frac{1}{2}$ НАД + $\frac{1}{2}$ $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ НАД Н	-0,320
$\frac{1}{2}$ НАДФ + $\frac{1}{2}$ $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ НАДФ Н	-0,320
$\frac{1}{2}$ Сукцинат + $\frac{1}{2}$ CO <sub>2</sub> + $\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \frac{1}{2}$ α-кетоглутарат + + $\frac{1}{2}$ H <sub>2</sub> O	-0,670





**Приложение 5.2. Величины pH в разных биожидкостях человеческого организма**

Биожидкость	pH
Плазма крови	7,36
Слюна	5,4–7,5
Желудочный сок в зависимости от возраста:	
1 месяц	5,8
3—7 месяцев	4,9
7—9 месяцев	4,5
3 года и старше	1,5–2,5
Сок тонкой кишки	6,0
Сок тощей кишки	7,0
Молоко	6,4–6,7
Моча	4,8–7,2
Пот	4,0–8,0

**Приложение 5.3. Константы ионизации некоторых распространенных лекарств**

Слабые кислоты	$pK_a^*$	Слабые основания	$pK_a^*$
Варфарин	5,0	Адреналин	8,7
Салициловая кислота	3,0	Амфетамин	9,8
Пириметамин	7,0	Атропин	9,7
Фуросемид	3,9	Ацетаминофен	9,5
Толбутамид	5,3	Гидралазин	7,1
Ампициллин	2,5	Гуанетидин**	11,4; 8,3
Ибупрофен**	4,4; 5,2	Дезипрамин	10,2
Кромолин	2,0	Дигидрокодеин	8,8
Метисергид	6,6	Дифенгидрамин	9,0
Эрготамин	6,3	Имипрамин	9,5
Сульфадиазин	6,5	Клонидин	8,3
Диазепам	3,3	Кодеин	8,2
Метилдопа**	2,2; 9,2	Кокаин	8,5





Продолжение табл.

Слабые кислоты	$pK_a^*$	Слабые основания	$pK_a^*$
Леводопа	2,3	Метадон	8,4
Хлордиазепоксид	4,6	Метамфетамин	10,0
Хлортиазид**	6,8; 9,4	Метараминол	8,6
Пилокарпин	6,9	Метилдопа	10,6
Хлорпропамид	5,0	Морфин	7,9
Этакриновая кислота	3,5	Никотин**	7,9; 3,1
Пеницилламин	1,8	Норадреналин	8,6
		Пентобарбитал	8,1
		Пиндолол	8,8
		Прокаин	9,0
		Прокаинамид	9,2
		Прометазин	9,1
		Пропранолол	9,4
		Псевдоэфедрин	9,8
		Скополамин	8,1
		Стрихнин**	8,0; 2,3
		Теofilлин	8,8
		Тербуталин	10,1
		Фенилэфрин	9,8
		Фенитоин	8,3
		Фенобарбитал	7,4
		Физостигмин**	7,9; 1,8
		Флуфеназин**	8,0; 3,9
		Хинидин**	8,5; 4,4
		Хлорпромазин	9,3
		Эфедрин	9,6

\*  $pK_a$  соответствует значению pH, при котором концентрации ионизированной и неионизированной форм находятся в равновесии.

\*\* Более одной ионизированной группы.



## **V Приложения к занятию 10**

### **Приложение 10.1**

Приложение № 2  
к приказу Министерства здравоохранения  
и социального развития РФ  
от 27 января 2006 г. № 40

#### **Рекомендации**

**по организации работы по отбору, транспортировке  
и хранению биологических объектов для проведения химико-  
токсикологических исследований на наличие алкоголя  
и его суррогатов, наркотических средств, психотропных  
и других токсических веществ, вызывающих  
опьянение (интоксикацию), и их метаболитов**

1. Настоящие рекомендации предназначены для организации работы по отбору, транспортировке и хранению биологических объектов для проведения химико-токсикологических исследований на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов, и распространяются на медицинские организации, в которых проводится медицинское освидетельствование на состояние опьянения и (или) диагностика факта употребления алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов.

#### **2. Рекомендации по отбору крови:**

Отбор крови у освидетельствуемого проводится на рабочем месте, которое оборудуется в соответствии с требованиями, предъявляемыми к оборудованию процедурного кабинета. Отбор крови проводится в резиновых перчатках, с соблюдением правил асептики, обработкой перчаток перед каждым отбором дезинфицирующим раствором, не содержащим спирт.

Перед проколом кожа освидетельствуемого обрабатывается стерильным тампоном (шариком из ваты), смоченным не содержащим спирт дезинфицирующим раствором. После взятия





крови к раневой поверхности прикладывается новый стерильный тампон, смоченный таким же дезинфицирующим раствором.

Стерильные тампоны следует хранить в упаковке из бумаги, в количестве не более 20 штук. Стерильные лабораторные инструменты хранятся в той же упаковке, в которой проводилась их стерилизация.

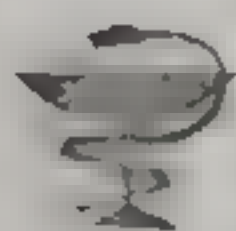
Кровь для проведения химико-токсикологических исследований отбирается из поверхностной вены одним из следующих способов:

Самотеком в сухой флакон с раствором гепарина (3–5 капель на каждые 10 мл крови). Отбирается 15 мл крови в два флакона объемами 10 и 5 мл. Флаконы закрываются стандартной резиновой пробкой, которая фиксируется алюминиевым колпачком. Содержимое флаконов сразу же перемешивается. Флаконы печатываются и направляются в ХТЛ для проведения химико-токсикологических исследований на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов. Флакон с 5 мл крови хранится как контрольный образец. Второй флакон с 10 мл крови (анализируемый образец) используется для проведения химико-токсикологических исследований.

С использованием вакуумных пробирок (одноразовых устройств для ускоренного взятия крови с содержанием гепарина и иглами с двух концов) один конец вводится в вену, другим концом прокалывается резиновая мембрана пробирки. Отбирается 15 мл крови в две вакуумные пробирки по 5 мл и 10 мл (контрольный и анализируемый образцы), пробирки печатываются. Для химико-токсикологических исследований на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов обеспечивается доставка образцов крови в ХТЛ не позднее двух суток после отбора. Кровь после отбора до момента отправки в ХТЛ хранится в холодильнике при температуре 0–2°C.

Кровь с сопроводительной документацией направляется в ХТЛ в укупоренных и опечатанных флаконах, вакуумных пробирках в специальном контейнере в сумке-холодильнике на транспорте медицинской организации в сопровождении меди-





цинского работника, ответственного за доставку биологических объектов.

### 3. Рекомендации по отбору жидкости полости рта:

Отбор жидкости полости рта (далее — слюна) проводится с использованием коллекторов, содержащих хлопковый тампон из стоматологической (хирургической) ваты. Хлопковый тампон помещается под язык на 10 минут без стимуляции слюноотделения. После того как тампон пропитается слюной, он помещается в коллектор, закрытый герметично пластмассовой пробкой, коллектор опечатывается и направляется с сопроводительной документацией в ХТЛ в специальном контейнере в сумке-холодильнике на транспорте медицинской организации в сопровождении медицинского работника, ответственного за доставку биологических объектов.

### 4. Рекомендации по отбору мочи:

Отбор мочи производится в условиях, исключающих возможность замены или фальсификации биологического объекта.

Моча собирается освидетельствуемым в стеклянный или пластмассовый градуированный сосуд с широким горлом объемом до 200 мл в количестве до 100 мл, но не менее 30 мл. Освидетельствуемый передает сосуд с мочой медицинскому персоналу. Сосуд с мочой накрывается покровной пластиной (крышкой).

В течение первых 5 минут проводится предварительное исследование мочи, включающее определение следующих показателей:

температуры (не более чем через 4 минуты после отбора мочи) стеклянным ртутным термометром (в норме температура находится в пределах  $32,5-37,7^{\circ}\text{C}$ );

рН с помощью универсальной индикаторной бумаги для определения рН мочи (в норме рН мочи в интервале 4–8 ед. рН);

относительной плотности (в норме относительная плотность в пределах 1.008–1.025);

содержания креатинина методом иммунной хроматографии — иммунохроматографическими тестами (в норме содержание креатинина 4,4–17,7 ммоль/сут).

Если при предварительном исследовании выявляется несоответствие указанных в настоящем пункте показателей их нормам, проводится повторный отбор мочи. Результаты предварительного исследования фиксируются в графе 9 Журнала





регистрации отбора биологических объектов (учетная форма № 450/у-06).

После проведения предварительных исследований мочу делят на две части ( $1/3$  и  $2/3$  общего объема) и помещают их в два стеклянных или пластмассовых герметично закрывающихся контейнера объемом 100 мл каждый. Первый контейнер с меньшим количеством мочи хранится как контрольный образец. Второй (анализируемый образец) используется для проведения химико-токсикологических исследований.

Для контрольного образца мочи используются контейнеры с контролем первого вскрытия.

При направлении мочи для проведения химико-токсикологических исследований на наличие алкоголя, его суррогатов и метаболитов, моча после разделения отбирается из контейнера с анализируемым образцом в чистый сухой флакон объемом 10 мл в количестве не менее 5 мл, закрывается резиновой пробкой, фиксируется алюминиевым колпачком и укупоривается под обкатку.

Для проведения химико-токсикологических исследований на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов моча доставляется в ХТЛ не позднее двух суток после отбора, до отправки в ХТЛ моча хранится в холодильнике при температуре  $0-2^{\circ}\text{C}$ .

Отобранная моча с сопроводительной документацией доставляется в ХТЛ в укупоренных и опечатанных контейнерах в сумке-холодильнике на транспорте медицинской организации медицинским работником, ответственным за доставку биологических объектов.

#### 5. Рекомендации по отбору волос:

Волосы срезаются ближе к коже ножницами с закругленными концами отдельно с лобной, теменной, затылочной, правой и левой височных областей волосистой части головы. При невозможности отбора волос с волосистой части головы (облысение), волосы срезаются с подмышечных впадин или лобковой области.

Для проведения химико-токсикологических исследований отбирается не менее 300 мг волос. Отобранные образцы волос делятся на две равные части, заворачиваются в фольгу, каждая часть помещается в отдельный конверт с соответствующими надписями: контрольный и анализируемый образцы. Конверты





опечатываются и хранятся в сухом месте при температуре 20–25°C до отправки в ХТЛ.

6. Рекомендации по отбору ногтей:

Ногти обрезаются ножницами с закругленными концами с рук или ног ближе к коже. Отобранные образцы ногтей упаковываются и отправляются в ХТЛ аналогично образцам волос.

7. Рекомендации по отбору потожировых выделений:

Отбор смывов с поверхности кожи для проведения химикотоксикологических исследований на наличие каннабиноидов производится ватным тампоном, смоченным спиртом. Вес тампона — 400–500 мг при расходе этанола до 1 мл. Тампоном тщательно протираются поверхности рук и лица (главным образом вокруг рта), после чего тампон высушивается на воздухе. После высушенный тампон упаковывается в отдельный полиэтиленовый пакет. Все полученные пакеты с объектами помещаются в один общий конверт, который опечатывается.

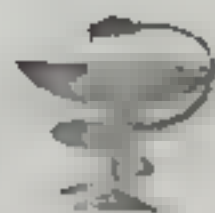
8. Рекомендации по подготовке биологических объектов и документации к транспортировке в ХТЛ:

Для отобранных биологических объектов готовятся две этикетки, одна из которых предназначена для контрольного образца, другая для анализируемого. На этикетках указывается штрих-код либо шестизначный код освидетельствуемого (для кодирования используется произвольный ряд чисел от 0 до 9, например: 003841, 658097 и т.д.), дата и код подразделения медицинской организации, в которой производится отбор биологических объектов. На этикетке контрольного образца после шестизначного кода либо штрих-кода освидетельствуемого ставится буква «К» (например: 003841-К). Обратная сторона этикеток подписывается освидетельстуемым до указания на этикетках его штрих-кода либо шестизначного кода.

Заполнение этикеток проводится лицом, ответственным за ведение Журнала регистрации отбора биологических объектов (учетная форма 450/у-06).

Каждая этикетка крепится к флакону (пробирке, контейнеру и пр.) клейкой лентой таким образом, чтобы исключить возможность подмены содержимого флакона без нарушения целостности этикетки. Место соединения концов ленты пломбируется и опечатывается с использованием штампа структурного подразделения медицинской организации, в которой проводится отбор биологических объектов.





Подготовленные биологические объекты упаковываются в контейнер и с сопроводительной документацией помещаются в сумку-холодильник.

9. Рекомендации по транспортировке биологических объектов и документации в ХТЛ:

Транспортировку биологических объектов и документации осуществляет лицо, на имя которого составлена Справка о доставке биологических объектов на химико-токсикологические исследования (учетная форма 451/у-06). Данное лицо обеспечивает сохранность биологических объектов и документации во время транспортировки.

Об отправке биологических объектов и документации уведомляется ХТЛ с использованием имеющихся средств связи.

10. Передачу биологических объектов и документов в ХТЛ рекомендуется осуществлять следующим образом:

доставленные биологические объекты и документацию принимает заведующий ХТЛ;

заведующий ХТЛ производит наружный осмотр целостности упаковки и соответствие биологических объектов их сопроводительной документации;

все сведения по приемке биологических объектов регистрируются в Справке о доставке биологических объектов на химико-токсикологические исследования (учетная форма № 451/у-06) и Журнале регистрации результатов химико-токсикологических исследований (учетная форма № 453/у-06).

11. Контрольные образцы биологических объектов при поступлении в ХТЛ сразу же помещаются на хранение в запираемые или опечатываемые холодильные шкафы и хранятся при температуре не менее минус 18°C. Срок хранения контрольного образца — 2 месяца со дня поступления в ХТЛ. Если в течение этого срока отсутствовала необходимость в повторных химико-токсикологических исследованиях, то по истечении 2-х месяцев контрольный образец биологического объекта уничтожается.

12. Анализируемые образцы биологических объектов при поступлении в ХТЛ хранятся в течение первых двух суток при температуре 0–2°C, далее — при температуре не менее минус 18°C в запираемых или опечатываемых холодильных шкафах.





## Приложение 10.2

Приложение № 5  
к приказу Министерства здравоохранения  
и социального развития РФ  
от 27 января 2006 г. № 40

Министерство здравоохранения  
и социального развития  
Российской Федерации

Медицинская документация  
Учетная форма № 450 у 06

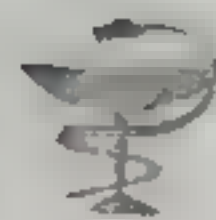
(Наименование медицинской  
организации)

Журнал  
регистрации отбора биологических объектов

№ п/п	Дата и время отбора биологического объекта	Освидетельствуемый				Наименование направляющей организации
		ф.и.о. (полностью)	воз- раст	пол	род занятий	
1	2	3	4	5	6	7

Предварительный клинический диагноз	Результаты предварительного ис- следования	Биологический объект, объем	Код биологического объекта	Дата и время направления биологического объекта в ХТЛ	Примечание	Подпись освидетельствуемого	Фамилия и инициалы, подпись ответственного лица
8	9	10	11	12	13	14	15





Приложение № 6  
к приказу Министерства здравоохранения  
и социального развития РФ  
от 27 января 2006 г. № 40

**Инструкция**  
**по заполнению учетной формы № 450/у-06**  
**«Журнал регистрации отбора биологических объектов»**

1. Учетная форма № 450/у-06 «Журнал регистрации отбора биологических объектов» (далее — Журнал) ведется в структурных подразделениях медицинских организаций, в которых проводится медицинское освидетельствование на состояние опьянения и (или) диагностика факта употребления алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов (далее — Подразделение).

2. Журнал пронумеровывается, прошнуровывается и скрепляется печатью медицинской организации. Журнал хранится в сейфе.

Графы 1–3, 15 Журнала заполняются работником Подразделения, производящего отбор биологического объекта. Регистрация освидетельствуемых в Журнале начинается с 1 января каждого календарного года с № 1.

3. В графе 1 указывается порядковый номер регистрации отобранного для проведения химико-токсикологических исследований биологического объекта.

В графе 2 указывается дата и время отбора биологического объекта.

В графе 3 указываются фамилия и инициалы освидетельствуемого по документу, удостоверяющему личность. При анонимном обращении освидетельствуемого в графу 3 вносится его шестизначный код (штрих-код), а в графе 7 делается запись «обратился самостоятельно».

Графы 4, 5 и 6 заполняются со слов освидетельствуемого. При этом в графе 6 указывается один из следующих родов занятий (вид деятельности) освидетельствуемого:

- водители;
- военнослужащие;
- работники сферы обслуживания;
- работники сферы искусства;
- рабочие;





студенты;  
школьники;  
прочие;  
неработающие.

В графе 7 указывается наименование организации, направляющей биологический объект на исследование.

В графе 8 указывается предварительный диагноз, основанный на результатах медицинского осмотра освидетельствуемого, в случаях, если медицинский осмотр проводился.

Графа 9 заполняется только в случае, если биологическим объектом является моча. Указываются результаты предварительного исследования, проведенного согласно пунктам 4.3 и 4.4 Правил отбора биологических объектов для проведения химико-токсикологических исследований на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов (приложение № 2). При соответствии результатов предварительных исследований всем предъявляемым к ним требованиям (температура, величина pH, плотность, содержание креатинина) делается запись «соответствуют», при несоответствии результатов даже по одному показателю — «не соответствуют».

Графа 10 заполняется только в случаях, когда биологическим объектом является кровь или моча, объем указывается в миллилитрах.

В графу 11 вносится шестизначный код биологического объекта (штрих-код), который соответствует шестизначному коду (штрих-коду) освидетельствуемого.

Графа 12 заполняется работником Подразделения, когда биологический объект направляется на химико-токсикологическое исследование в ХТЛ.

В графу 13 вносятся дополнительные сведения об освидетельствуемом: сведения о лекарствах или наркотических средствах, принятых освидетельствуемым за последние три дня; другая информация, которую сочтет нужным сообщить о себе освидетельствуемый.

В графе 14 освидетельствуемому предлагается расписаться до указания кода биологического объекта в графе 11.

В графе 15 указывается фамилия и ставится подпись работника Подразделения, производившего отбор биологического объекта.

4. Заполненный Журнал хранится в течение 2-х месяцев в Подразделении, затем в архиве медицинской организации в течение 5 лет после отчетного года, после чего уничтожается.





### Приложение 10.3

Министерство здравоохранения  
и социального развития  
Российской Федерации

Медицинская документация  
Учетная форма № 452/у-06

(Наименование медицинской  
организации)

#### Направление на химико-токсикологические исследования

«\_\_» \_\_\_\_\_ 200\_\_ г. № \_\_\_\_\_

В \_\_\_\_\_  
(наименование химико-токсикологической лаборатории — ХТЛ)

(наименование медицинской организации и его структурного подразделения,  
выдавшего направление)

(фамилия, имя, отчество освидетельствуемого, возраст)

Код биологического объекта \_\_\_\_\_

Дата и время отбора объекта \_\_\_\_\_

Условия хранения объектов \_\_\_\_\_

Биологический объект и его количество и показатели \_\_\_\_\_

Предварительный клинический диагноз \_\_\_\_\_

Цель химико-токсикологических исследований \_\_\_\_\_  
(на обнаружение какого

вещества (средства) или группы веществ (средств) требуется провести исследования)

Дополнительные сведения \_\_\_\_\_

Дата и время отправки биологических объектов в ХТЛ \_\_\_\_\_

Ф.И.О. врача (фельдшера),  
выдавшего направление \_\_\_\_\_  
(подпись)





Приложение № 8  
к приказу Министерства здравоохранения  
и социального развития РФ  
от 27 января 2006 г. № 40

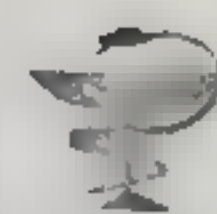
**Инструкция**  
**по заполнению учетной формы № 452/у-06**  
**«Направление на химико-токсикологические**  
**исследования»**

1. Учетная форма № 452/у-06 «Направление на химико-токсикологические исследования» (далее — Направление) заполняется и выдается структурными подразделениями медицинских организаций, проводящих медицинское освидетельствование на состояние опьянения и (или) диагностику факта употребления алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов (далее — Подразделение) в случаях, когда требуется лабораторное подтверждение или исключение наличия алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию) и их метаболитов в биологических объектах.

2. На основании Направления ХТЛ проводит химико-токсикологические исследования и выдает Справку о результатах химико-токсикологических исследований (учетная форма № 454/у-06) о наличии или отсутствии алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию) и их метаболитов в представленном на химико-токсикологические исследования биологическом объекте.

3. В Направлении указывается: дата его заполнения и его номер; наименование медицинской организации и Подразделения, выдавшего Направление; наименование ХТЛ, куда направляется биологический объект; фамилия и инициалы освидетельствуемого (при анонимном обращении — штрих-код); возраст; код биологического объекта (штрих-код), дата и время (часы, минуты) отбора биологического объекта, условия хранения биологического объекта после его отбора, включающие температурный режим хранения; биологический объект (кровь, моча, слюна и пр.), для крови и мочи — объем в мл; физико-хи-





мические показатели для мочи; если проводился медицинский осмотр — предварительные результаты осмотра биологического объекта; цель химико-токсикологических исследований: на какое вещество (средство) или группы веществ (средств) требуется провести исследования.

4. Направление на химико-токсикологические исследования заполняется и подписывается работником Подразделения, производившим отбор биологического объекта.

5. Направления хранятся в ХТЛ в течение одного года, после чего уничтожаются.

#### Приложение 10.4

Приложение № 9  
к приказу Министерства здравоохранения  
и социального развития РФ  
от 27 января 2006 г. № 40

Министерство здравоохранения  
и социального развития  
Российской Федерации

Медицинская документация  
Учетная форма № 451/у-06

(Наименование медицинской  
организации)

#### Справка о доставке биологических объектов на химико-токсикологические исследования

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 200\_\_ г.      № \_\_\_\_\_

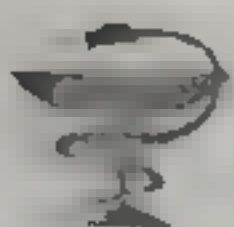
(наименование структурного подразделения, производившего отбор  
биологических объектов — Подразделение)

(наименование химико-токсикологической лаборатории — ХТЛ)

Номера направлений на химико-токсикологические исследова-  
ния и даты их выдачи \_\_\_\_\_

Коды (штрих-коды) биологических объектов \_\_\_\_\_





## Приложения

Дата и время отправки биологических объектов \_\_\_\_\_

(Ф.И.О. лица, осуществляющего перевозку биологических объектов) \_\_\_\_\_

(фамилия, инициалы и подпись работника Подразделения) \_\_\_\_\_

Дата и время доставки биологических объектов в ХТЛ \_\_\_\_\_

Результаты наружного осмотра биологических объектов \_\_\_\_\_

Выявленные несоответствия \_\_\_\_\_

Заведующий ХТЛ \_\_\_\_\_

(Подпись)

(Фамилия, инициалы)

Штамп ХТЛ \_\_\_\_\_

Приложение № 10  
к приказу Министерства здравоохранения  
и социального развития РФ  
от 27 января 2006 г. № 40

### Инструкция

по заполнению учетной формы 451/у-06  
«Справка о доставке биологических объектов  
на химико-токсикологические исследования»

1. Учетная форма № 451/у-06 «Справка о доставке биологических объектов на химико-токсикологические исследования» (далее — Справка) заполняется в структурных подразделениях медицинских организаций, в которых проводится медицинское освидетельствование на состояние опьянения и (или) диагностика факта употребления алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов, и в которых производился отбор биологических объектов (далее — Подразделения).





2. Дата на Справке и ее номер, строки Справки «Наименование структурного подразделения медицинской организации, производившего отбор биологических объектов)», «Наименование химико-токсикологической лаборатории», «Номера направлений на химико-токсикологические исследования и даты их выдачи», «Коды (штрих-коды) биологических объектов», «Дата и время отправки биологических объектов», «Фамилия и инициалы лица, осуществляющего перевозку биологических объектов» заполняются и подписываются сотрудником Подразделения, работающим в день отправки биологического объекта в ХТЛ.

3. Справка выдается лицу, осуществляющему доставку биологических объектов в ХТЛ, с направлениями на химико-токсикологические исследования (учетная форма № 452/у-06).

4. Доставленные в ХТЛ биологические объекты осматриваются заведующим ХТЛ, которым указывается в Справке дата и время доставки биологических объектов в ХТЛ, проводится наружный осмотр целостности упаковки, проверка соответствия записей на этикетках и количества доставленных биологических объектов сопроводительной документации. Результаты осмотра заносятся заведующим ХТЛ в строку «Результаты наружного осмотра биологических объектов» Справки.

5. В случае несоответствия упаковки требованиям, изложенным в приложении № 2, при неправильном оформлении сопроводительной документации выявленные несоответствия подробно описываются в строке Справки «Выявленные несоответствия».

6. При несоблюдении условий хранения биологических объектов после отбора и при их транспортировке биологические объекты на химико-токсикологические исследования не принимаются с соответствующей записью в строке Справки «Выявленные несоответствия».

7. Справка составляется в двух экземплярах, первый экземпляр остается в ХТЛ, второй заверяется штампом ХТЛ и возвращается в структурное подразделение медицинской организации, в котором был произведен отбор биологических объектов. Оба экземпляра Справки хранятся в течение одного года, после чего уничтожаются.





## Приложение 10.5

Таблица цветных тестов

(по: Маркова И.В., Афанасьев В.В., Цыбульский Э.К. и др. Клиническая токсикология детей и подростков. Ч. 1-2. — СПб.: ИНТЕРМЕДИКА, 1999).

Лекарственное средство	Реагент					
	$\text{HNO}_3$ конц.	$\text{H}_2\text{SO}_4$ конц.	$(\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3)$ конц.	реактив Марки	$\text{FeCl}_3$ (3%-й раствор)	Реактив FPN
1	2	3	4	5	6	7
амитриптилин	—	оранж.	—	оранж.	—	—
амфетамин осн.	—	оранж.	—	кор./оранж.	—	—
аминазин	—	розов.	—	розов.	розов.	розов.
аспирин	—	—	—	t° малин.	син.	—
анальгин	—	желт.	—	—	сирен.	—
бисептол	малин.	—	—	—	—	—
героин	желт.: св.-зел.	—	—	фиол.	—	—
галазолин	—	—	—	оранж./красн.	—	—
димедрол	—	желт.	розов.	желт.	—	—
индометацин	зел./желт.	оранж.	—	оранж.	—	—
кодеин	—	t° красн.*	—	фиол.	—	—
курантил	фиол.	желт./оранж.	—	t° розов.*	—	—
морфин	—	—	—	фиол.	фиол.	—
метадон	t° оранж./зел.*	желт.	оранж./красн.	фиол.	—	—
но-шпа	—	—	—	розов./фиол.	—	—
нафтизин	—	—	—	серо-зел.	—	—

1  
нифеди-  
пин  
папаверин  
парацето-  
мол  
тавегил  
тетрацик-  
лин  
тизерцин  
фенацетин  
финлепсин  
фуросемид  
феикарол  
хинин  
хинидин  
циклодол  
эритроми-  
цин  
\* t° — ок  
\*\* 10 мин  
— окраш  
Приложение  
Анализ  
токсикологи-  
ческого с  
журнале их  
сравнивают  
таблеток пр





Продолжение табл.

1	2	3	4	5	6	7
нифеди- пин	—	оранж.	—	—	—	—
папаверин	—	—	—	розов./ голуб.	—	—
парацето- мол	—	—	—	—	син.	—
тавегил	—	желт.	—	желт./ зел.	—	—
тетрацик- лин	—	фиол.	—	оранж.	—	—
тизерцин	—	син.	—	син.	син.	син.
фенацетин	t° лим./ желт.	—	—	—	син.	—
финлепсин	желт.	желт.	—	—	—	—
фуросемид	—	желт./зел.	—	—	—	—
фенкарол	—	желт.	—	желт./ сирен.	—	—
хинин	—	свеч. УФ	—	—	—	—
хинидин	—	свеч. УФ	—	—	—	—
циклодол	—	10 мин** / малин.	—	—	—	—
эритроми- цин	—	кор./ черн.	—	—	—	—

\* t° — окраска появляется при нагревании препарата с реактивом;

\*\* 10 мин — окраска появляется через 10 мин;

— окрашивание отсутствует.

### Приложение 10.6

Анализ неизвестных таблеток. Доставленные на химико-токсикологическое исследование таблетки неизвестного лекарственного средства осматривают и описывают в лабораторном журнале их цвет, форму, размер, маркировку на поверхности и сравнивают с коллекционными образцами. Пробоподготовку таблеток проводят следующим образом: таблетку отмывают от





оболочки, измельчают и смешивают с метанолом (этанолом). При этом в осадке окажутся входящие в состав таблетки, нерастворимые в спирте наполнители (крахмал, тальк и т.д.). Полученную спиртовую вытяжку отфильтровывают и фильтрат используют для проведения предварительных испытаний с помощью цветных тестов, методом хроматографии в тонком слое (ТСХ), ИК-спектроскопии, спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой области.

Если на таблетках различима маркировка, то устанавливают химическую природу лекарственного вещества. Пользуясь справочной литературой, определяют химический класс соединения, содержащиеся в молекуле функциональные группы. Затем выясняют природу органического растворителя и интервал значений pH, оптимальные для изолирования лекарственного вещества.

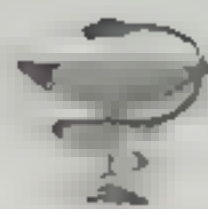
После отработки методики анализа на лекарственном препарате ее можно использовать при работе с биоматериалом — кровью или мочой.

**Анализ объектов растительного происхождения.** При осмотре исследуемого объекта отмечают степень его дисперсности, присутствие в пробе семян (например, мака) или ядовитых растений (например, семян чилибухи), цвет и запах. Так, например, маковая соломка имеет цвет от серо-зеленого до серого, гашиш — от серо-зеленого до коричневого. При исследовании частей растений, грибов, семян, частиц надкрылий испанских мушек, кусочков индийской конопли следует обратиться за консультацией к специалисту в области фармакогнозии.

Из доставленного на химико-токсикологическое исследование растительного материала готовят спиртовое извлечение. Для этого 1 г растительного сырья смешивают с 10 мл смеси этанола с хлороформом (1:2) и нагревают на водяной бане до начала кипения. Полученное извлечение фильтруют и исследуют фильтрат методом ТСХ или проводят хромогенные реакции.

**Анализ порошка неизвестного состава.** При осмотре порошка обращают внимание на его фазовое состояние (аморфный или кристаллический), цвет и запах. Далее проверяют его растворимость в воде. Так, при pH  $\approx$  7,0 в воде растворимы некоторые соли и сахара. В подкисленной воде растворимы органические основания. В водных растворах с pH  $>$  7,0 хорошо





растворяются органические вещества кислотной природы, например карбоновые кислоты. Если исследуемое вещество в воде не растворяется, определяют его растворимость в неполярных растворителях.

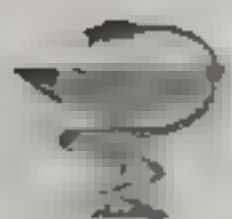
Природу яда можно установить, нагревая и прокаливая пробу. Порцию исследуемого порошка помещают на прокаленную платиновую петлю и прокаливают его в пламени спиртовки. Неорганические вещества не обугливаются. Органические вещества при прокаливании сгорают до  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2$  и других газообразных продуктов. При прокаливании солей, образованных органической кислотой и щелочным металлом, масса остатка на петле становится меньше массы исходного образца, взятого для прокаливании. На петле остается карбонат щелочного металла, раствор которого имеет красное окрашивание при добавлении раствора фенолфталеина.

При прокаливании углеводов появляется запах жженого сахара, при прокаливании белковых материалов — запах жженных волос. Запах аммиака свидетельствует о присутствии некоторых солей аммония или мочевины. При прокаливании йодсодержащих веществ выделяются пары йода.

**Анализ жидкости неизвестного состава.** Доставленную на исследование жидкость сначала подвергают органолептическому анализу. Отмечают цвет, запах. Определяют значение pH по универсальному индикатору (кислота, щелочь) или потенциометрически. Проверяют смешиваемость исследуемой жидкости с водой. Низшие спирты ( $\text{C}_1\text{—C}_3$ ), ацетон, гликоли, эфиры этиленгликоля хорошо смешиваются с водой.

Высшие спирты и эфиры алифатических спиртов, ароматические углеводороды имеют плотность меньше  $1 \text{ г/см}^3$ , т.е. они легче воды (например, плотность пентанола —  $0,8144 \text{ г/см}^3$ ). Хлорированные углеводороды тяжелее воды (например, плотность хлороформа —  $1,4892 \text{ г/см}^3$ ). Эти соединения не смешиваются с водой. Показатель преломления жидкости, определяемый рефрактометрическим методом, также является характеристикой, позволяющей предварительно оценить природу токсиканта.





Приложение 10.7

Приложение № 11  
к приказу Министерства здравоохранения  
и социального развития РФ  
от 27 января 2006 г. № 40

Министерство здравоохранения  
и социального развития  
Российской Федерации

Медицинская документация  
Учетная форма № 454/у-06

(Наименование медицинской  
организации)

**Справка**  
**о результатах химико-токсикологических исследований**

(Наименование химико-токсикологической лаборатории — ХТЛ)

Химико-токсикологические исследования №№ \_\_\_\_\_

Дата проведенных химико-токсикологических исследований \_\_\_\_\_

Химико-токсикологические исследования проведены \_\_\_\_\_

(Фамилия, инициалы специалиста ХТЛ, проводившего исследования)

Химико-токсикологические исследования проведены по Направ-  
лению на химико-токсикологическое исследование \_\_\_\_\_

(наименование структурного подразделения медицинской организации,

производившего отбор биологического объекта и выдавшего направление  
на химико-токсикологические исследования)

№ \_\_\_\_\_ от « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 200\_ г.

Фамилия, инициалы освидетельствуемого, возраст \_\_\_\_\_

Код биологического объекта \_\_\_\_\_

Биологический объект \_\_\_\_\_





Методы исследования:  
предварительные:

подтверждающие:

При химико-токсикологических исследованиях обнаружены  
(вещества, средства):

Концентрация обнаруженного вещества (средства)

(Подпись специалиста ХТЛ, проводившего исследования)

М.П.

Приложение № 12  
к приказу Министерства здравоохранения  
и социального развития РФ  
от 27 января 2006 г. № 40

### Инструкция

по заполнению учетной формы № 454/у-06 «Справка  
о результатах химико-токсикологических исследований»

1. Учетная форма № 454/у-06 «Справка о результатах химико-токсикологических исследований» (далее — Учетная форма № 454/у-06) заполняется специалистом ХТЛ, проводившим химико-токсикологические исследования.

2. При заполнении Учетной формы № 454/у-06 указываются: наименование химико-токсикологической лаборатории; номера химико-токсикологических исследований, соответствующие порядковым номерам исследований, зарегистрированных в Журнале регистрации результатов химико-токсикологических





исследований (учетная форма 453/у-06); дата их проведения, фамилия и инициалы специалиста ХТЛ, проводившего химико-токсикологические исследования; номер направления на химико-токсикологические исследования с датой его выдачи и наименованием структурного подразделения медицинской организации, производившего отбор биологического объекта и выдавшего направление; фамилия и инициалы освидетельствуемого и его возраст; шестизначный код биологического объекта освидетельствуемого или штрих-код.

3. В строке «Методы исследования» указываются использованные предварительные методы (иммунохроматографический, иммуноферментный, поляризационный флуороиммуноанализ, тонкослойная хроматография) и подтверждающие методы (спектральные, хроматографические: специализированные системы для обнаружения опиатов, каннабиноидов, бензодиазепинов на основе тонкослойной хроматографии, газожидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, хромато-масс-спектрометрия). Не допускается указание названий методов в сокращениях.

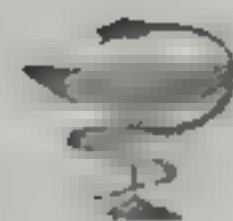
4. В строке «биологический объект» указывается: кровь, моча, слюна и др.

5. В строке «При химико-токсикологических исследованиях обнаружены (вещества, средства)» при обнаружении алкоголя, его суррогатов, наркотических средств (групп средств), психотропных и других токсических веществ (групп веществ) и их метаболитов указывается наименование обнаруженных веществ (средств) в соответствии с принятыми классификациями и в строке «Концентрация обнаруженного вещества (средства)» — массовая концентрация обнаруженного вещества (средства) в биологическом объекте, выраженная в единицах измерения: мкг на мл, мкг на грамм, мг на мл и т.д.

6. Если искомые вещества не обнаружены, в строке «При химико-токсикологических исследованиях обнаружены (вещества, средства)» делается запись (ставится штамп): «указанные в направлении как цель исследования вещества (средства) не обнаружены на уровне предела обнаружения используемого метода».

7. При положительных результатах химико-токсикологических исследований предварительными методами проводится их подтверждение одним или двумя подтверждающими методами. При отрицательных результатах подтверждающих методов в строке «При химико-токсикологических исследованиях обнару-





жены (вещества, средства)» делается запись (ставится штамп): «указанные в направлении как цель исследования вещества (средства) не обнаружены на уровне предела обнаружения используемого метода».

8. При положительных результатах подтверждающих методов в строке «При химико-токсикологических исследованиях обнаружены (вещества, средства)» делается запись: указанные в направлении как цель исследования вещества (средства) обнаружены на уровне предела обнаружения используемых методов, а при необходимости в строке «Концентрация обнаруженного вещества (средства)» указывается и их концентрация.

9. Заполненная Учетная форма 454/у-06 подписывается специалистом ХТЛ, проводившим химико-токсикологические исследования, и заверяется печатью наркологического диспансера (наркологической больницы), в структуре которого находится ХТЛ, или штампом ХТЛ с указанием полного наименования наркологического диспансера (наркологической больницы) и хранится в архиве наркологического диспансера (наркологической больницы) в течение 5 лет, после чего уничтожается.



# V Приложения к занятию 12

## Приложение 12.1

Таблица 12.1

Токсические дозы и эффекты при отравлении парацетамолом

Организм	Тип токсической дозы при поступлении <i>per os</i>	Значение дозы, мг/кг	Органы и ткани мишени	Литература
Ребенок	LDL0*	501—440	Органы ЖКТ: тошнота, рвота, диарея; кожные аллергические реакции; кроветворение: апластическая анемия; легкие: острый легочный отек; почки: некроз канальцев; раздражительность	Американский журнал неотложной медицины. 1988. Ч. 6. — С. 510 Американский журнал детских болезней. 1983. — Ч. 137. С. 386
Взрослый	TDL0**	143—9286	Органы ЖКТ: тошнота, рвота, диарея, анорексия; кожные аллергические реакции; кроветворение: апластическая анемия агранулоцитоз, тромбоцитопения; почки: некроз канальцев; тремор; кома.	Британский медицинский журнал. 1981. — Ч. 282. — Стр. 199. Журнал клинической токсикологии, 1991. — Ч. 29. — С. 223

\*  $LDL_0$  (Limit Doze Lethal) — предельная летальная доза;

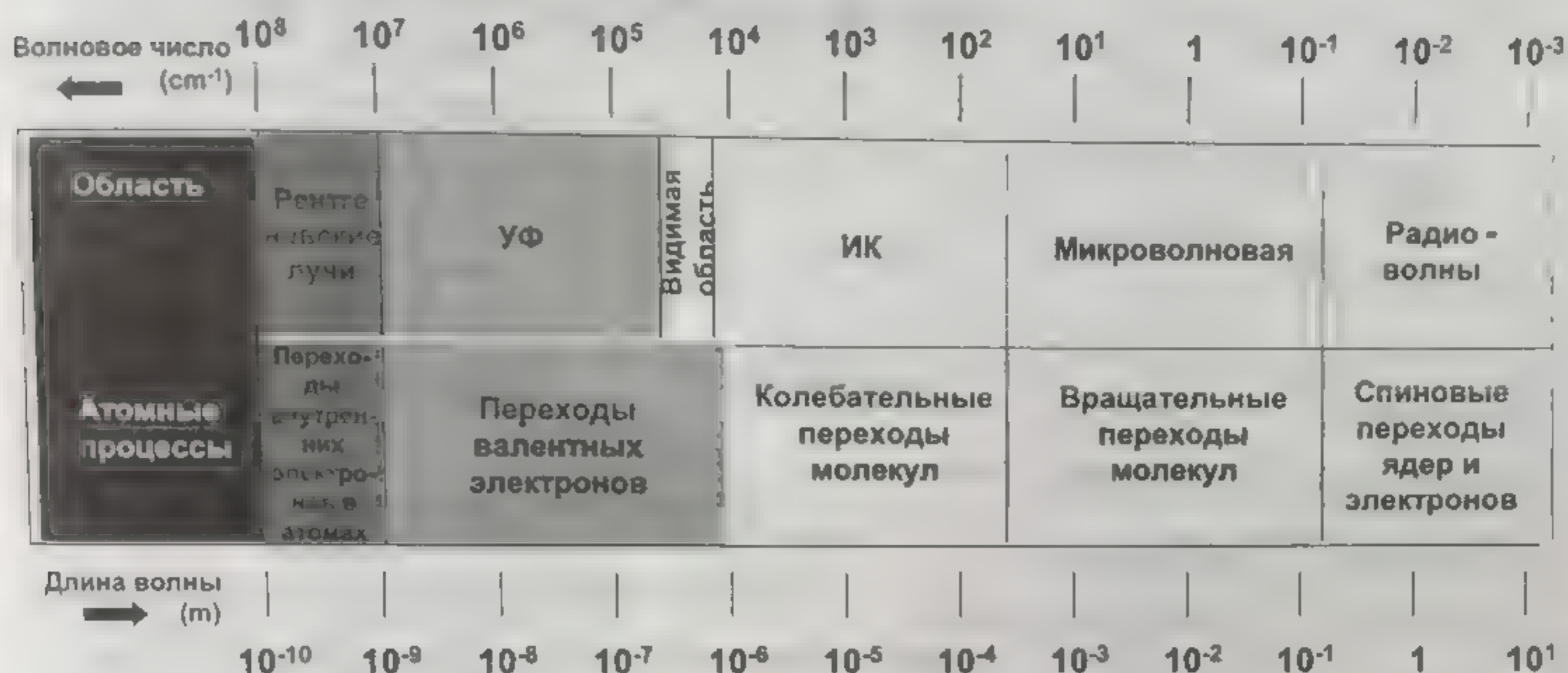
\*\*  $TDL_0$  (Threshold Doze Lethal) — пороговая летальная доза.





## Приложение 12.2

### Электромагнитное излучение



## Приложение 12.3

### Положение характеристических полос в ИК-спектрах

Группа	Область частот, $\text{cm}^{-1}$
<b>Валентные колебания O—H:</b>	
свободные OH-группы;	3610–3645 (узкая)
группы OH, участвующие во внутримолекулярной водородной связи;	3450–3600 (узкая)
группы OH, участвующие в межмолекулярной водородной связи;	3200–3550 (широкая)
группы OH в хелатных соединениях	2500–3200 (очень широкая)
<b>Валентные колебания N—H:</b>	
свободные NH-группы;	3300–3500
группы NH, участвующие в водородной связи;	3070–3350
N—CH <sub>3</sub> (в ароматических соединениях);	2810–2820
N—CH <sub>3</sub> (в алифатических соединениях)	2780–2805
<b>Валентные колебания C—H:</b>	
$\equiv\text{C—H}$ ;	3280–3340





Продолжение табл.

Группа	Область частот, $\text{см}^{-1}$
$=\text{CH};$	3300–3100
$\text{C}-\text{CH}_3;$	2872 $\pm$ 10 2962 $\pm$ 10
$\text{O}-\text{CH}_3;$	2815–2832
$\text{CH}_2$ -группы;	2853 $\pm$ 10 2926 $\pm$ 10
$\text{CH}$ -группы	2880–2900
<b>Валентные колебания S—H:</b>	
свободные SH-группы	2550–2600
Валентные колебания S=O:	1310–1335
валентные колебания C—N:	1030–1360
<b>Валентные колебания C<math>\equiv</math>N:</b>	
несопряженные C $\equiv$ N-группы;	2240–2260
сопряженные C $\equiv$ N-группы	2215–2240
<b>Валентные колебания C<math>\equiv</math>C:</b>	
C $\equiv$ CH (концевые);	2100–2140
C-C $\equiv$ C-C;	2190–2260
C-C $\equiv$ C-C $\equiv$ CH	2040; 2200
Валентные колебания N=O	1500–1600
Валентные колебания C=O:	
несопряженные C=O-группы;	1700–1900
сопряженные C=O-группы;	1590–1750
группы CO в амидах	~1650
<b>Валентные колебания C=C:</b>	
несопряженные C=C-связи;	1620–1680
сопряженные C=C-связи	1585–1625
<b>Деформационные колебания C—H:</b>	
$\text{CH}_2$ -группы;	1405–1465
$\text{CH}_3$ -группы	1355–1395 1430–1470





Продолжение табл.

Группа	Область частот, см <sup>-1</sup>
<b>Колебания С—О—С в сложных эфирах:</b>	
формиаты;	~1175
ацетаты;	1010–1040; ~1240
бензоаты	~1275
Валентные колебания С—О (спирты, простые и сложные эфиры)	1050–1280
<b>Валентные колебания С—ОН:</b>	
вторичные циклические спирты;	960–1060
скелетные колебания С—С и деформационные колебания =С—Р	700–1000
<b>Неплоские деформационные колебания С—Н в замещенных этиленовых системах:</b>	
—CH=CH <sub>2</sub> ;	905–915; 985–995
—CH=CH— (цис.);	650–750
—CH=CH— (транс.);	960–970
	885–895
$\text{>C=CH}_2$	
$  \begin{array}{ccc}  \text{C} & & \text{H} \\  & \diagdown & / \\  & \text{C}=\text{C} & \\  & / & \diagdown \\  \text{C} & & \text{C}  \end{array}  $	790–840



## V Приложения к занятию 13

### Приложение 13.1

Хроматографические камеры производства немецкой фирмы DEZAGA представляют собой емкости с плоским дном и покровным стеклом, позволяющие проводить процедуру хроматографии в условиях частичного или полного насыщения атмосферы камеры парами растворителя. Благодаря оптимальным размерам происходит низкое потребление растворителей в процессе работы. Размер камер предназначен для пластин разных стандартных размеров: 5×5, 10×10, 15×15 и 20×20 см.

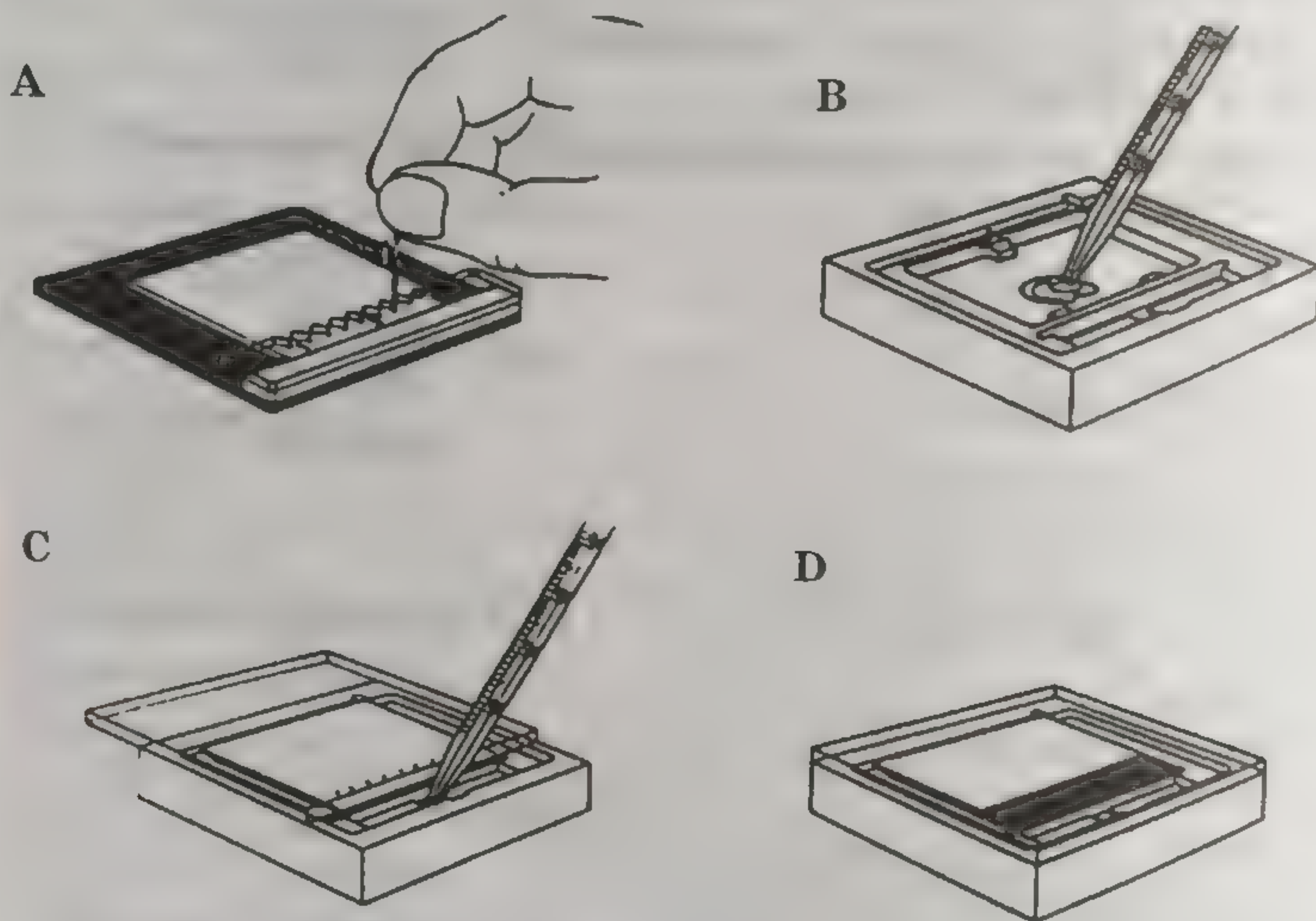


Схема хроматографического разделения анализируемой смеси в тонком слое сорбента с использованием камер DEZAGA:

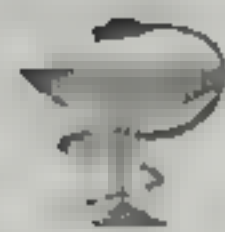
А — нанесение пробы на пластинку с использованием шаблона;

В — ввод подвижной фазы в камеру;

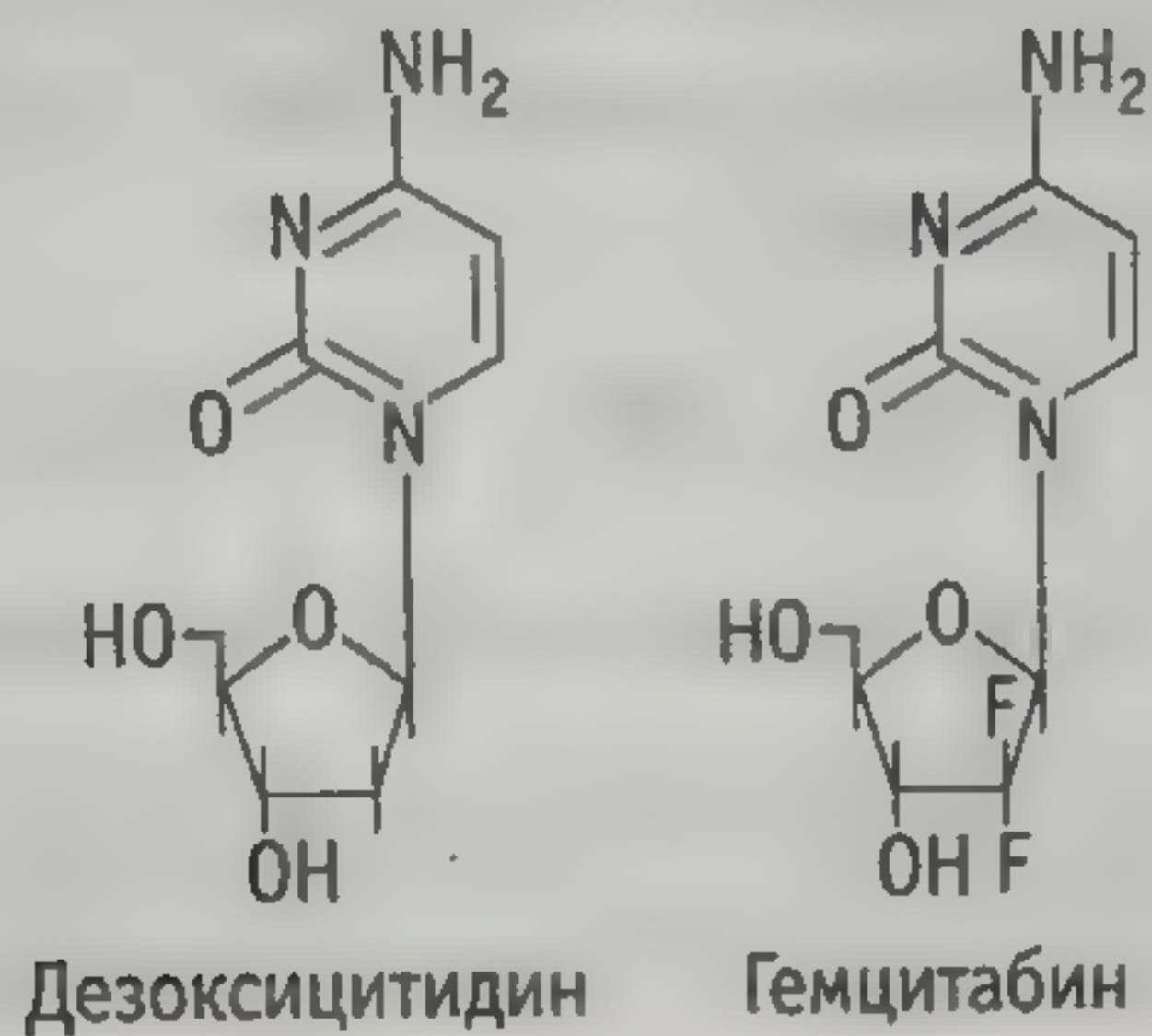
С — размещение хроматографической пластинки в камере;

Д — продвижение растворителя с определяемыми и стандартными веществами (видна линия фронта).





**Приложение 13.2. Структурные формулы физиологического нуклеозида дезоксицитидина и его антиметаболита-гемцитабина**





## **V Приложения к занятию 17**

*Приложение 17.1. Выдержки из Федерального закона от 08.01.98 № 3-ФЗ «О наркотических средствах и психотропных веществах»*

8 января 1998 года № 3-ФЗ

### **РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ**

#### **Федеральный закон о наркотических средствах и психотропных веществах**

Принят  
Государственной Думой  
10 декабря 1997 года

Одобен  
Советом Федерации  
24 декабря 1997 года

Настоящий Федеральный закон устанавливает правовые основы государственной политики в сфере оборота наркотических средств, психотропных веществ и в области противодействия их незаконному обороту в целях охраны здоровья граждан, государственной и общественной безопасности.

#### **Глава I. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ**

##### **Статья 1. Основные понятия**

В целях настоящего Федерального закона используются следующие основные понятия:

наркотические средства — вещества синтетического или естественного происхождения, препараты, растения, включенные в Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации, в соответствии с законодательством Российской Федерации, международными договорами Российской Федерации, в том числе Единой конвенцией о наркотических средствах 1961 года;

психотропные вещества — вещества синтетического или естественного происхождения, препараты, природные материалы,





включенные в Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации, в соответствии с законодательством Российской Федерации, международными договорами Российской Федерации, в том числе Конвенцией о психотропных веществах 1971 года;

прекурсоры наркотических средств и психотропных веществ (далее — прекурсоры) — вещества, часто используемые при производстве, изготовлении, переработке наркотических средств и психотропных веществ, включенные в Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации, в соответствии с законодательством Российской Федерации, международными договорами Российской Федерации, в том числе Конвенцией Организации Объединенных Наций о борьбе против незаконного оборота наркотических средств и психотропных веществ 1988 года;

аналоги наркотических средств и психотропных веществ — запрещенные для оборота в Российской Федерации вещества синтетического или естественного происхождения, не включенные в Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации, химическая структура и свойства которых сходны с химической структурой и со свойствами наркотических средств и психотропных веществ, психоактивное действие которых они воспроизводят;

препарат — смесь веществ в любом физическом состоянии, содержащая одно или несколько наркотических средств или психотропных веществ, включенных в Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации;

оборот наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров — культивирование растений; разработка, производство, изготовление, переработка, хранение, перевозка, пересылка, отпуск, реализация, распределение, приобретение, использование, ввоз на таможенную территорию Российской Федерации, вывоз с таможенной территории Российской Федерации, уничтожение наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, разрешенные и контролируемые в соответствии с законодательством Российской Федерации;

незаконный оборот наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров — оборот наркотических средств,





психотропных веществ и их прекурсоров, осуществляемый в нарушение законодательства Российской Федерации;

производство наркотических средств, психотропных веществ — действия, направленные на серийное получение наркотических средств или психотропных веществ из химических веществ и (или) растений;

изготовление наркотических средств, психотропных веществ — действия, в результате которых на основе наркотических средств, психотропных веществ или их прекурсоров получены готовые к использованию и потреблению формы наркотических средств, психотропных веществ или содержащие их лекарственные средства;

переработка наркотических средств, психотропных веществ — действия, в результате которых происходят рафинирование (очистка от посторонних примесей), повышение в препарате концентрации наркотических средств или психотропных веществ, а также получение на их основе веществ, не являющихся наркотическими средствами или психотропными веществами;

распределение наркотических средств, психотропных веществ — действия, в результате которых в соответствии с порядком, установленным Правительством Российской Федерации, конкретные юридические лица получают в установленных для них размерах конкретные наркотические средства или психотропные вещества для осуществления оборота наркотических средств или психотропных веществ;

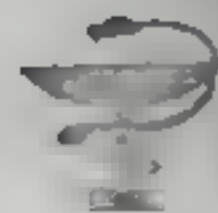
ввоз (вывоз) наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров (далее — ввоз (вывоз) — перемещение наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров с таможенной территории другого государства на таможенную территорию Российской Федерации или с таможенной территории Российской Федерации на таможенную территорию другого государства;

наркомания — заболевание, обусловленное зависимостью от наркотического средства или психотропного вещества;

больной наркоманией — лицо, которому по результатам медицинского освидетельствования, проведенного в соответствии с настоящим Федеральным законом, поставлен диагноз «наркомания»;

незаконное потребление наркотических средств или психотропных веществ — потребление наркотических средств или психотропных веществ без назначения врача;





государственные квоты на наркотические средства и психотропные вещества (далее — государственные квоты) — квоты на наркотические средства и психотропные вещества, устанавливаемые Правительством Российской Федерации в соответствии с международными договорами Российской Федерации на основании расчета потребности Российской Федерации в наркотических средствах и психотропных веществах, в пределах которых осуществляется их оборот.

## Статья 2. Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации

1. Наркотические средства, психотропные вещества и их прекурсоры, подлежащие контролю в Российской Федерации, включаются в Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации (далее — Перечень), и в зависимости от применяемых государством мер контроля вносятся в следующие списки:

список наркотических средств и психотропных веществ, оборот которых в Российской Федерации запрещен в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации (далее — Список I);

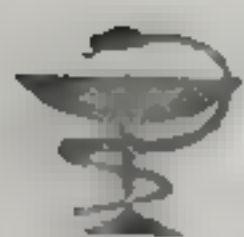
список наркотических средств и психотропных веществ, оборот которых в Российской Федерации ограничен и в отношении которых устанавливаются меры контроля в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации (далее — Список II);

список психотропных веществ, оборот которых в Российской Федерации ограничен и в отношении которых допускается исключение некоторых мер контроля в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации (далее — Список III);

список прекурсоров, оборот которых в Российской Федерации ограничен и в отношении которых устанавливаются меры контроля в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации (далее — Список IV).

2. Перечень утверждается Правительством Российской Федерации по представлению федерального органа исполнительной власти в области здравоохранения и федерального органа





исполнительной власти в области внутренних дел. Перечень подлежит официальному опубликованию в соответствии с законодательством Российской Федерации.

3. Порядок внесения изменений и дополнений в Перечень устанавливается Правительством Российской Федерации.

4. В отношении препаратов предусматриваются меры контроля, аналогичные тем, которые устанавливаются в отношении наркотических средств и психотропных веществ, содержащихся в них.

5. В отношении препаратов, которые содержат малые количества наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, внесенных в списки II, III или IV, и поэтому не представляют опасности в случае злоупотребления ими или представляют незначительную опасность и из которых указанные средства или вещества не извлекаются легкодоступными способами, могут исключаться некоторые меры контроля, установленные настоящим Федеральным законом. Порядок применения мер контроля в отношении указанных препаратов устанавливается Правительством Российской Федерации.

6. Федеральный орган исполнительной власти в области здравоохранения устанавливает предельно допустимое количество наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, содержащихся в препаратах, указанных в пункте 5 настоящей статьи.

**Приложение 17.2. Приложение к Федеральному закону от 08.01.98 №3-ФЗ «О наркотических средствах и психотропных веществах»**

Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации

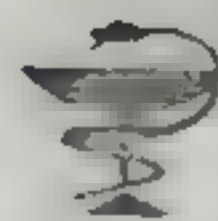
Список I наркотических средств и психотропных веществ, оборот которых в Российской Федерации запрещен в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации

**АЛЛИЛПРОДИН**

**АЛЬФА-МЕПРОДИН**

**АЛЬФА-МЕТАДОЛ**





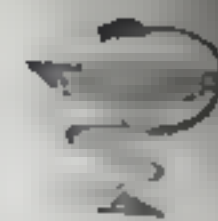
АЛЬФА-МЕТИЛФЕНТАНИЛ  
АЛЬФА-МЕТИЛТИОФЕНТАНИЛ  
АЛЬФА-ПРОДИН  
АЛЬФА-ЦЕТИЛМЕТАДОЛ  
АКС (Норациметадол)  
L-МЕТАДОН  
N-ГИДРОКСИ МДА  
N-ОКСИМОРФИН  
N-ЭТИЛ МДА  
D-МЕТАДОН  
АНИЛЭРИДИН  
L-АЦЕТИЛ-АЛЬФАМЕТИЛФЕНТАНИЛ  
АЦЕТИЛГИДРОКОДЕИН  
АЦЕТИЛИРОВАННЫЙ ОПИЙ  
АЦЕТИЛКОДЕИН  
АЦЕТИЛМЕТАДОЛ  
АЦЕТОРФИН  
БЕЗИТРАМИД  
БЕНЗЕТИДИН  
БЕНЗИЛМОРФИН  
БЕТА-ГИДРОКСИ-3-МЕТИЛФЕНТАНИЛ  
БЕТА-ГИДРОКСИФЕНТАНИЛ  
БЕТАМЕПРОДИН  
БЕТАМЕТАДОЛ  
БЕТАПРОДИН  
БЕТАЦЕТИЛМЕТАДОЛ  
ГАШИШ, АНАША, СМОЛА КАННАБИСА  
ГЕРОИН (ДИАЦЕТИЛМОРФИН)  
ГИДРОКОДОН  
ГИДРОКОДОНА ФОСФАТ  
ГИДРОМОРФИНОЛ  
ГИДРОМОРФОН  
ДЕЗОМОРФИН  
ДЕКСАМФЕТАМИН  
ДИАПРОМИД  
ДИАЦЕТИЛМОРФИН (ГЕРОИН)  
ДИГИДРОКОДЕИН  
ДИГИДРОМОРФИН  
ДИМЕНОКСАДОЛ  
ДИМЕПГЕПТАНОЛ  
ДИМЕТИЛТИАМБУТЕН





ДИОКСАФЕТИЛ  
ДИПИПАНОН  
ДИФЕНОКСИН  
ДИЭТИЛТИАМБУТЕН  
ДМА (dl-2,5-диметокси-альфа-метил-фенил-этиламин)  
ДМГП (Диметилгептилпирано)  
ДМТ (Диметилтриптамин)  
ДОБ (2,5-диметокси-4-бром-амфетамин)  
ДОЭТ (dl-2,5-диметокси-4-этил-амфетамин)  
ДРОТЕБАНОН  
ДЭТ (М,М-диэтилтриптамин)  
ИЗОМЕТАДОН  
КАННАБИС, МАРИХУАНА  
КАПЛИ ЖЕЛУДОЧНЫЕ (состав: настойка опия, 10 мл; настойка мяты, 20 мл; настойка полыни, 30 мл; настойка валерианы, 40 мл)  
КАТ  
КАТИН (НОРПСЕВДОЭФЕДРИН)  
КАТИНОН  
КЕТОБЕМИДОН  
КЛОНИТАЗЕН  
КОДОКСИМ  
КОНЦЕНТРАТ МАКОВОЙ СОЛОМЫ  
КОНОПЛЯ  
КУСТАРНО ПРИГОТОВЛЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ ИЗ ЭФЕДРИНА или из препаратов, содержащих эфедрин  
КУСТАРНО ПРИГОТОВЛЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ ИЗ ПСЕВДОЭФЕДРИНА или из препаратов, содержащих псевдоэфедрин  
ЛЕВОМЕТОРФАН  
ЛЕВОМОРАМИД  
ЛЕВОРФАНОЛ  
ЛЕВОФЕНАЦИЛМОРФАН  
ЛИЗЕРГИНОВАЯ КИСЛОТА и ее препараты, в том числе (+) — Лизергид  
ЛИСТ КОКА  
МАКОВАЯ СОЛОМА  
МАСЛО КАННАБИСА (ГАШИШНОЕ МАСЛО)  
МДА (ТЕНАМФЕТАМИН) (3,4-метилендиоксиамфетамин)  
МДМА (dl-3,4-метилендиокси-М-альфа-диметил-фенил-этиламин)  
6-МОНОАЦЕТИЛМОРФИН, 3-МОНОАЦЕТИЛМОРФИН





МЕКЛОКВАЛОН  
 МЕСКАЛИН  
 МЕТАДОН  
 МЕТАДОН промежуточный продукт  
 МЕТАЗОЦИН  
 МЕТАКВАЛОН  
 МЕТИЛДЕЗОРФИН  
 МЕТИЛДИГИДРОМОРФИН  
 3-МЕТИЛТИОФЕНТАНИЛ  
 МЕТИЛФЕНИДАТ  
 3-МЕТИЛФЕНТАНИЛ  
 МЕТОПОН  
 МИРОФИН  
 МЛЕЧНЫЙ СОК РАЗНЫХ ВИДОВ МАКА, не являющихся  
 снотворным маком, но содержащих алкалоиды мака, включен-  
 ные в списки наркотических средств и психотропных веществ  
 ММДА (с11-5-метокси-3,4-метилен-диокси-альфа-метилфенил-  
 этиламин)  
 МОРАМИД, промежуточный продукт  
 МОРФЕРИДИН  
 МОРФИН МЕТИЛБРОМИД  
 МППП (1-метил-4-фенил-4-пиперидин пропионат (эфир)  
 НАСТОЙКА ОПИЯ ПРОСТАЯ  
 НИКОДИКОДИН  
 НИКОКОДИН  
 НИКОМОРФИН  
 НОРАЦИМЕТАДОЛ  
 НОРКОДЕИН  
 НОРЛЕВОРФАНОЛ  
 НОРМЕТАДОН  
 НОРМОРФИН  
 НОРПИПАНОН  
 ОКСИКОДОН  
 ОКСИМОРФОН  
 ОПИИ (свернувшийся сок опийного или масличного мака)  
 ОПИЙНЫЙ МАК (растение вида *Papaver Somniferum L.*)  
 ОПИУМ МЕДИЦИНСКИЙ (опий, подвергшийся обработке,  
 необходимой для его применения с медицинской целью, в том  
 числе в порошке)  
 ОРИПАВИН  
 ПАРА-ФЛУОРОФЕНТАНИН





ПАРАГЕКСИЛ  
ПЕПАП (1-фенетин-4-фенил-пиперидином ацетат)  
ПЕТИДИН  
ПЕТИДИН, промежуточный продукт А  
ПИМИНОДИН  
ПЛОДОВОЕ ТЕЛО ( ЛЮБАЯ ЧАСТЬ) ЛЮБОГО ВИДА ГРИБОВ, содержащих псилоцибин и (или) псилоцин  
ПМА (4-метокси-альфа-метилфенил-этиламин)  
ПРОГЕПТАЗИН  
ПРОПЕРИДИН  
ПРОПИРАМ  
ПСИЛОЦИБИН  
ПСИЛОЦИН  
РАСТВОР ЛЕМОРАНА для инъекций  
РАСТВОР ТЕКОДИНА для инъекций  
РАСТВОР «ЭСКОДОЛ» для инъекций  
РАЦЕМЕТОРФАН  
РАЦЕМОРАМИД  
РАЦЕМОРФАН  
РОЛИЦИКЛИДИН  
СВЕЧИ С ЭКСТРАКТОМ ОПИЯ  
СМОЛА КАННАБИСА (смола каннабиса означает отделенную смолу, неочищенную или очищенную, полученную из растения каннабис)  
СОЛИ всех наркотических средств, перечисленных в этом Списке во всех случаях, когда существование таких солей возможно  
СТП (ДОМ) (2-амино-1-(2,5-диметокси-4-метил) фенилпропан)  
ТАБЛЕТКИ «БИСАЛ»  
ТАБЛЕТКИ ГИДРОКОДОНА ФОСФАТА  
ТАБЛЕТКИ ЖЕЛУДОЧНЫЕ С ОПИЕМ  
ТАБЛЕТКИ ЛЕМОРАНА  
ТАБЛЕТКИ ОПИЯ  
ТАБЛЕТКИ ОТ КАШЛЯ ДЛЯ ВЗРОСЛЫХ  
ОПИЙНЫЕ ТАБЛЕТКИ ПЕКТОЛ  
ТАБЛЕТКИ ПО БЕХТЕРЕВУ  
ТАБЛЕТКИ ТЕКОДИНА  
ТЕБАКОН  
ТЕНОЦИКЛИДИН  
ТЕТРАГИДРОКАННАБИНОЛЫ все изомеры  
ТИОФЕНТАНИЛ

ТМА(-3,4)  
ФЕНАДО  
ФЕНАДО  
ФЕНАЗО  
ФЕНАМИ  
ФЕНАТИ  
ФЕНЦИН  
ФЕНОМО  
ФЕНОПЕ  
ФОЛЬКО  
ФУРЕТИ  
ЭКГОНИ

могут быть п

ЭКСТРАК  
ЭКСТРАК  
ЭТИЛМЕТ  
ЭТИЦИКЛ  
ЭТОКСЕР  
ЭТОНИТА  
ЭТОРФИН  
ЭТРИПТА  
ЭФЕДРОН  
ЭФИРЫ сл

гурирующие в  
ских средствах  
N— МЕТИ  
N— МЕТИ

Список  
веществ, обор  
и в  
меры кон  
Российской

Наркотиче  
d — АМИНО  
меры (антидот  
АЛЬФЕНТА  
АМФЕТАМИ  
НЫЕ ЛЕКАРСТ





ТМА(-3,4,5-триметокси-альфа-метилфенил-этиламин)

ФЕНАДОКСОН

ФЕНАДОН

ФЕНАЗОЦИН

ФЕНАМПРОМИД

ФЕНАТИН

ФЕНЦИКЛИДИН

ФЕНОМОРФАН

ФЕНОПЕРИДИН

ФОЛЬКОДИН

ФУРЕТИДИН

ЭКГОНИН и его сложные эфиры и производные, которые могут быть превращены в экгонин и кокаин

ЭКСТРАКТ МАКОВОЙ СОЛОМЫ

ЭКСТРАКТ ОПИЯ СУХОЙ

ЭТИЛМЕТИЛТИАМБУТЕН

ЭТИЦИКЛИДИН

ЭТОКСЕРИДИН

ЭТОНИТАЗЕН

ЭТОРФИН

ЭТРИПТАМИН

ЭФЕДРОН (МЕТКАТИНОН)

ЭФИРЫ сложные и простые наркотических средств, не фигурирующие в других списках Единой конвенции о наркотических средствах, 1961 г.

N — МЕТИЛЭФЕДРОН

N — МЕТИЛАМФЕТАМИН

**Список II наркотических средств и психотропных веществ, оборот которых в Российской Федерации ограничен и в отношении которых устанавливаются меры контроля в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации**

**Наркотические средства:**

d — АМИНОПРОПИОФЕНОН (РАРР) и его оптические изомеры (антидот против цианидов)

АЛЬФЕНТАНИЛ

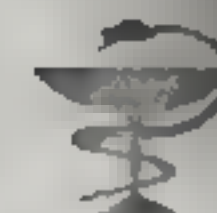
АМФЕТАМИН И СОДЕРЖАЩИЕ ЕГО КОМБИНИРОВАННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ





БУПРЕНОРФИН  
ДЕКСТРОРАМИД  
ДЕКСТРОПРОПОКСИФЕН  
ДИПИДОЛОР (ПИРИТРАМИД)  
ДИФЕНОКСИЛАТ  
ИБУПРОКСИРОН (ДЕКСТРОПРОПОКСИФЕН)  
КОДЕИН  
КОДЕИНА ФОСФАТ  
КОКАИНА ГИДРОХЛОРИД  
КОДЕИН N-ОКИСЬ  
МОРФИНА ГИДРОХЛОРИД  
МОРФИНА СУЛЬФАТ  
МОРФИЛОНГ  
НОКСИРОН  
ОМНОПОН  
ПЕНТАЗОЦИН  
ПРОПЕРИДИН  
ПРОПИРАМ  
ПРОСИДОЛ  
ПРОКСИВОН (ДЕКСТРОПРОПОКСИФЕН)  
ПИРИТРАМИД(ДИПИДОЛОР)  
РЕАЗЕК  
СВЕЧИ ТИЛИДИНА в разных дозировках  
СОМБРЕВИН  
СПАЗМОПРОКСИВОН (Декстропропоксифен)  
СУФЕНТАНИЛ  
ТАБЛЕТКИ «АНАЛГОН»  
ТАБЛЕТКИ (кодеина фосфата 0,015 г + сахара 0,25 г)  
ТАБЛЕТКИ (кодеина 0,01 г, 0,015 г + сахара 0,25 г)  
ТАБЛЕТКИ (кодеина 0,015 г + натрия гидрокарбоната 0,25 г)  
ТАБЛЕТКИ КОДТЕРПИН (кодеина 0,015 г + натрия гидрокарбонат + терпингидрата 0,25 г)  
ТАБЛЕТКИ ОТ КАШЛЯ (состав: травы термопсиса, 0,01 г (0,02 г); кодеина, 0,02 г (0,01 г); натрия гидрокарбоната, 0,2 г; корня солодки в порошке, 0,2 г)  
ТЕБАИН  
ТИЛИДИН  
ТРИМЕПЕРИДИН (ПРОМЕДОЛ)  
ФЕНАМИН  
ФЕНТАНИЛ  
ЭТИЛМОРФИН





ЭСКОДОЛ  
ЭСТОЦИН  
ЭСТОЦИНА ГИДРОХЛОРИД ЭТИЛМОРФИНА ГИДРО-  
ХЛОРИД

*Психотропные вещества:*

АМОБАРБИТАЛ (БАРБАМИЛ)  
БРОМИЗОВАЛ  
КЕТАМИНА ГИДРОХЛОРИД (КАЛИПСОЛ, КЕТАЛАР)  
ФЕНМЕТРАЗИН  
ФЕНТЕРМИН  
ФЕПРАНОН (АМФЕПРАМОН)  
ЭТАМИНАЛ НАТРИЯ  
ХАЛЬЦИОН (ТРИАЗОЛАМ)

Список III психотропных веществ, оборот которых  
в Российской Федерации ограничен и в отношении  
которых допускается исключение некоторых мер контроля  
в соответствии с законодательством Российской Федерации  
и международными договорами  
Российской Федерации

АМИНОРЕКС  
АПРОФЕН  
БЕНЗФЕТАМИН  
ГАЛОТАН(ФТОРОТАН)  
ДЕКСТРОМЕТОРФАН  
ЛЕВАМФЕТАМИН  
ЛЕФЕТАМИН  
МАЗИНДОЛ  
4-МЕТИЛАМИНОРЕКС  
МЕФЕНОРЕКС  
НАТРИЙ ОКСИБУТИРАТ и другие соли оксимасляной ки-  
слоты  
ПЕНТАБАРБИТАЛ  
ПИПРАДРОЛ  
ТАРЕН  
ФЕНДИМЕТРАЗИН  
ФЕНПРОПОРЕКС  
ЦИПЕПРОЛ  
ЭТИЛАМФЕТАМИН





Список IV прекурсоров, оборот которых в Российской Федерации ограничен и в отношении которых устанавливаются меры контроля в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации

*Группа 1.* Прекурсоры, на которые распространяется действие п. 1 ст. 28 Федерального закона «О наркотических средствах и психотропных веществах» (ввоз (вывоз) осуществляется государственными унитарными предприятиями при наличии лицензии на указанный вид деятельности)

1. N-МЕТИЛЭФЕДРИН
2. ЛИЗЕРГИНОВАЯ КИСЛОТА
3. НОРПСЕВДОЭФЕДРИН
4. ПСЕВДОЭФЕДРИН
5. ЭРГОМЕТРИН (ЭРГОНОВЕН)
6. ЭРГОТАМИН
7. ЭФЕДРИН
8. ФЕНИЛПРОПАНОЛАМИН

Соли всех веществ, перечисленных в п. 1–8, в тех случаях, когда образование таких солей возможно.

9. 1-ФЕНИЛ-2-ПРОПАНОН
10. 3,4-МЕТИЛЕНДИОКСИФЕНИЛ-2-ПРОПАНОН

*Группа 2.* Прекурсоры, на которые не распространяется действие п. 1 ст. 28 Федерального закона «О наркотических средствах и психотропных веществах»

1. АНГИДРИД УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ
2. АНТРАНИЛОВАЯ КИСЛОТА
3. N-АЦЕТИЛАНТРАНИЛОВАЯ КИСЛОТА
4. АЦЕТОН
5. ИЗОСАФРОЛ
6. КРАСНЫЙ ФОСФОР
7. МЕТИЛЭТИЛКЕТОН (2-бутанон)
8. ПЕРМАНГНАТ КАЛИЯ
9. ПИПЕРОНАЛЬ





10. ПИПЕРИДИН
11. САФРОЛ
12. СЕРНАЯ КИСЛОТА, исключая ее соли
13. СОЛЯНАЯ КИСЛОТА, исключая ее соли
14. ТОЛУОЛ
15. ФЕНИЛУКСУСНАЯ КИСЛОТА
16. ЭТИЛОВЫЙ ЭФИР



## V Приложения к занятию 21

### Приложение 21.1

Приложение № 1  
к приказу Министерства здравоохранения  
и социального развития РФ  
от 27 января 2006 г. № 40

#### Положение об организации работы химико-токсикологической лаборатории наркологического диспансера (наркологической больницы)

1. Химико-токсикологическая лаборатория наркологического диспансера (наркологической больницы) (далее — ХТЛ) является структурным подразделением наркологического диспансера или наркологической больницы.

2. ХТЛ организуется для проведения химико-токсикологических исследований биологических жидкостей организма человека (кровь, моча, слюна) на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов, а также альтернативных объектов (смывы с поверхности кожи, волосы, ногти и пр.) на наличие наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов (далее — биологические объекты).

3. ХТЛ возглавляется заведующим, который подчиняется главному врачу наркологического диспансера (наркологической больницы).

4. Штаты ХТЛ укомплектовываются врачами, провизорами, специалистами с немедицинским образованием, допущенными к занятию должности врача клинической лабораторной диагностики в установленном порядке, имеющими сертификат по специальности «Клиническая лабораторная диагностика» и прошедшими дополнительную подготовку по аналитической токсикологии наркотических средств, психотропных и других токсических веществ.

5. ХТЛ располагается в отдельном, изолированном помещении, исключающем доступ посторонних лиц и отвечающем тре-



бованиям техники безопасности при работе персонала в ХТЛ и санитарно-гигиеническим требованиям, обеспечивающим выполнение возложенных на нее задач. ХТЛ оснащается необходимым оборудованием, оргтехникой, инвентарем, реактивами, справочной литературой, нормативно-технической документацией, средствами связи и охранной сигнализацией.

6. ХТЛ осуществляет следующие функции:

6.1. Прием в установленном порядке на химико-токсикологические исследования биологических объектов.

6.2. Хранение биологического объекта для повторных химико-токсикологических исследований в течение двух месяцев с соблюдением установленных для этого требований.

6.3. Проведение химико-токсикологических исследований принятых биологических объектов на наличие алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов. Ведение рабочего журнала проводимых исследований в произвольной форме с описанием биологического объекта и результатов.

6.4. Оформление результатов химико-токсикологических исследований о наличии (отсутствии) в исследуемых биологических объектах алкоголя и его суррогатов, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ, вызывающих опьянение (интоксикацию), и их метаболитов по установленной форме.

6.5. Выдача Справок о результатах химико-токсикологических исследований биологических объектов (учетная форма № 454/у-06).

7. В ХТЛ используются бланки Справок о результатах химико-токсикологических исследований (учетная форма № 454/у-06) и штамп с наименованием наркологического диспансера (наркологической больницы), ведется учет и отчетность по формам, утвержденным в установленном порядке.

8. Штатная численность персонала ХТЛ устанавливается руководителем наркологического диспансера (наркологической больницы) с учетом рекомендованных штатных нормативов и объема проводимых химико-токсикологических исследований.

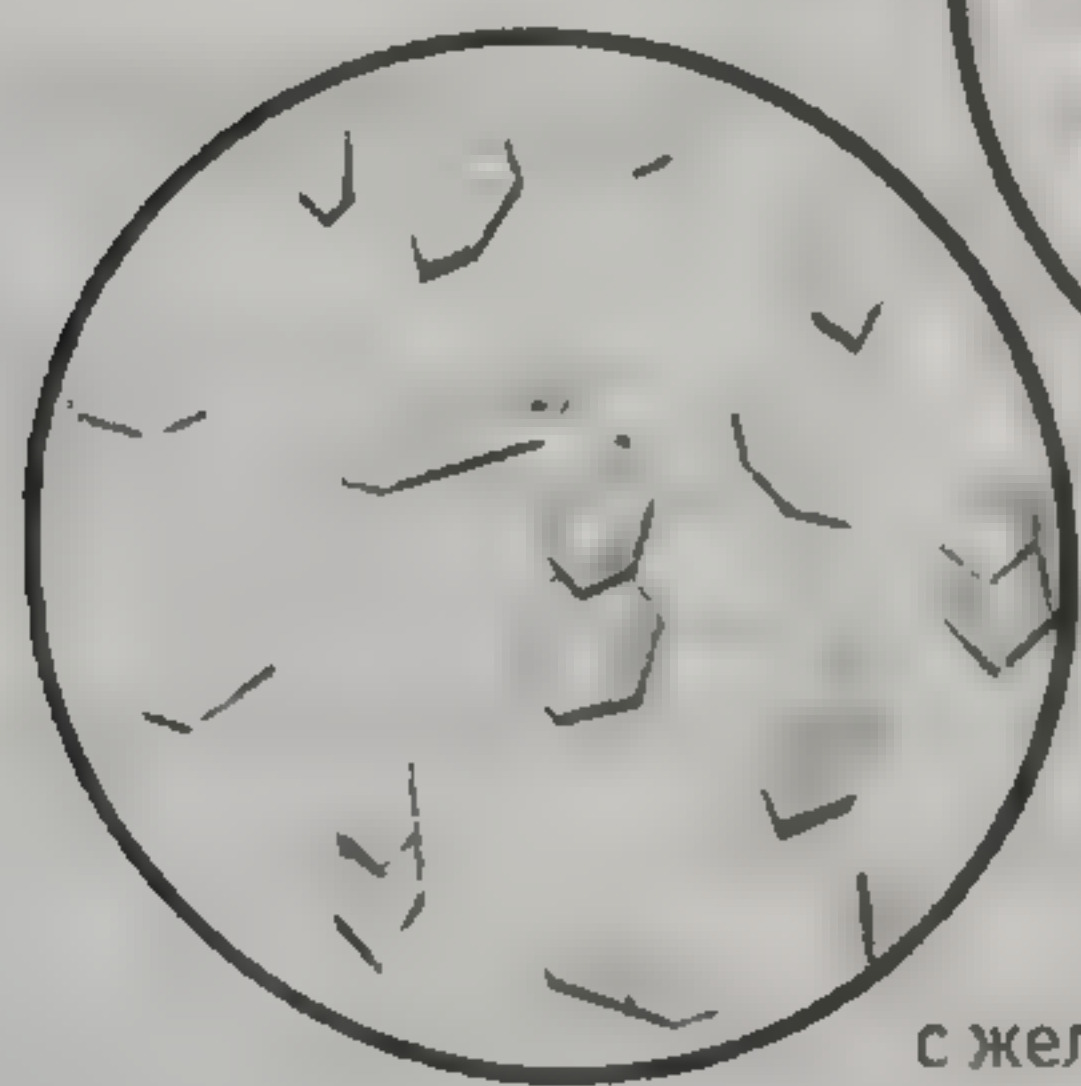
9. Контроль за деятельностью ХТЛ, расходом реактивов и правильным использованием оборудования осуществляется руководителем (заместителем руководителя) наркологического диспансера (наркологической больницы), структурным подразделением которого является ХТЛ.



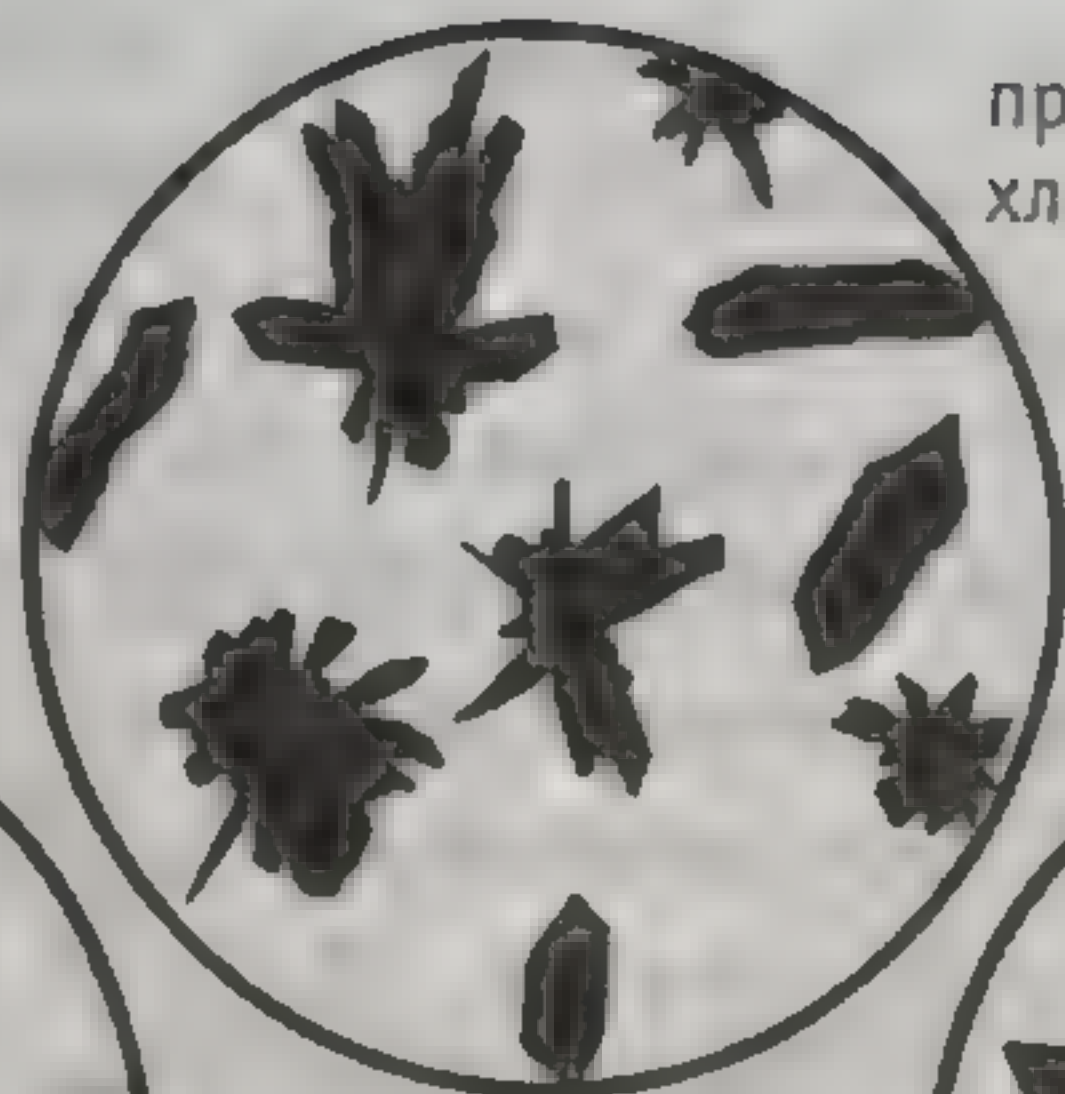


## Приложение 21.2

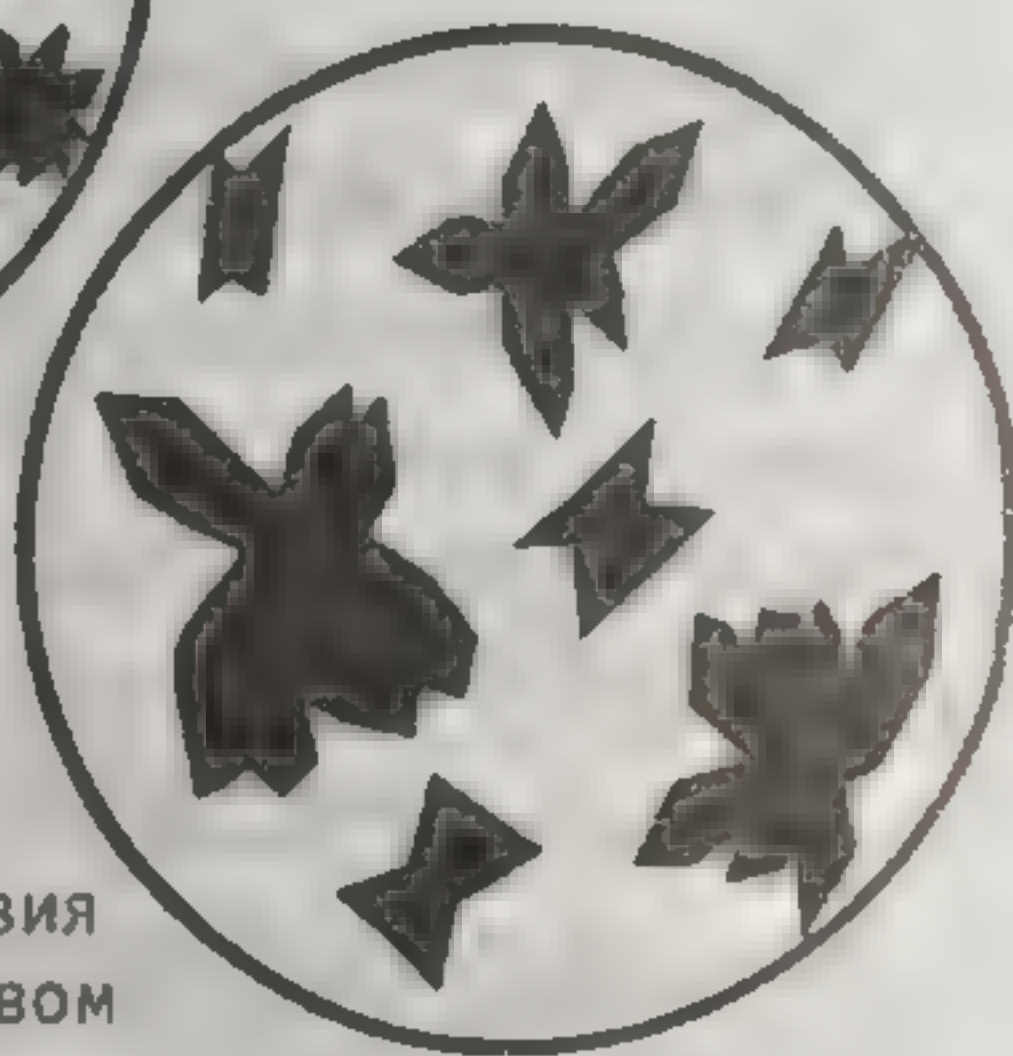
Микрoкристаллические  
реакции Барбамила



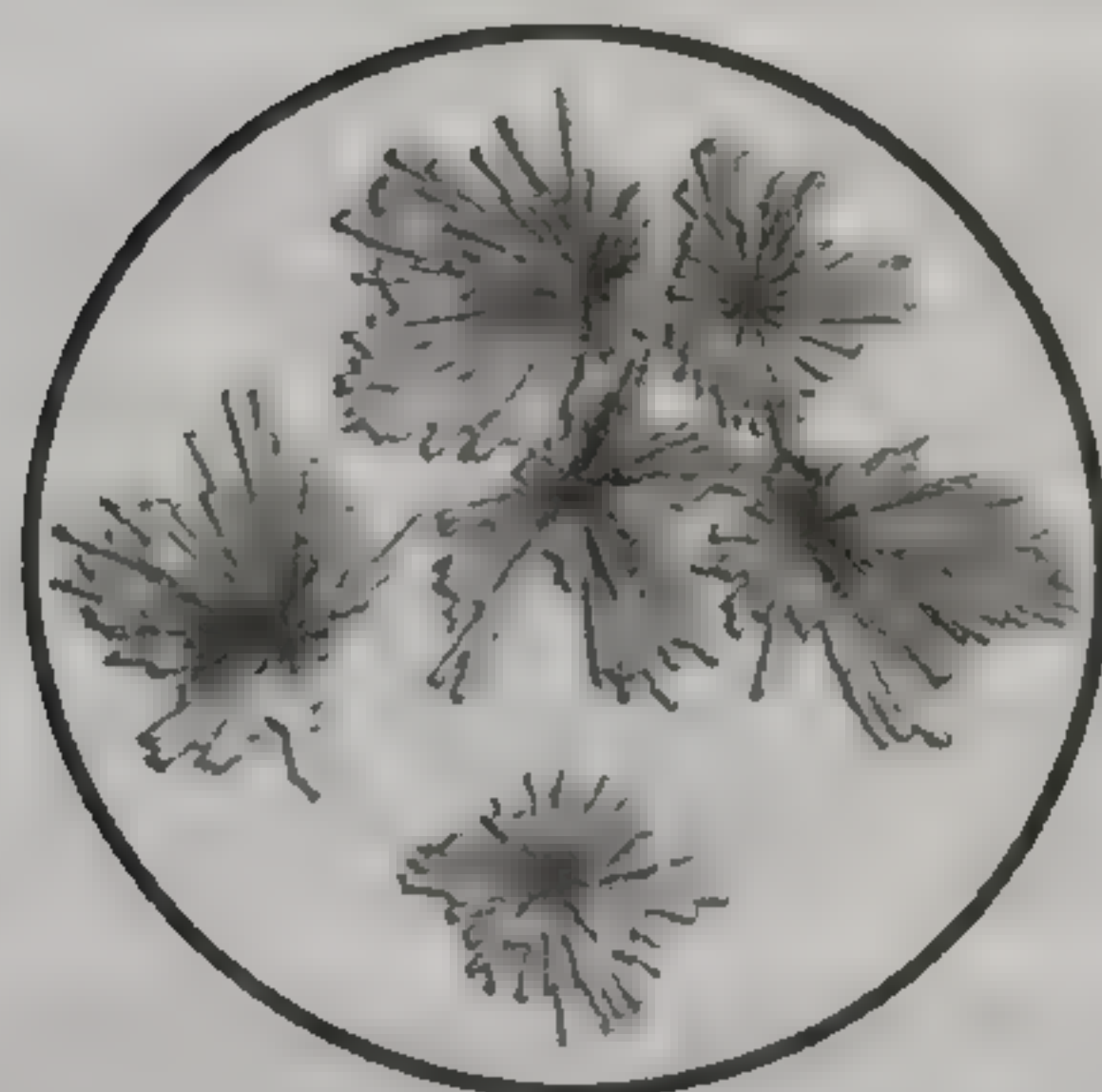
кислотная  
форма Барбамила



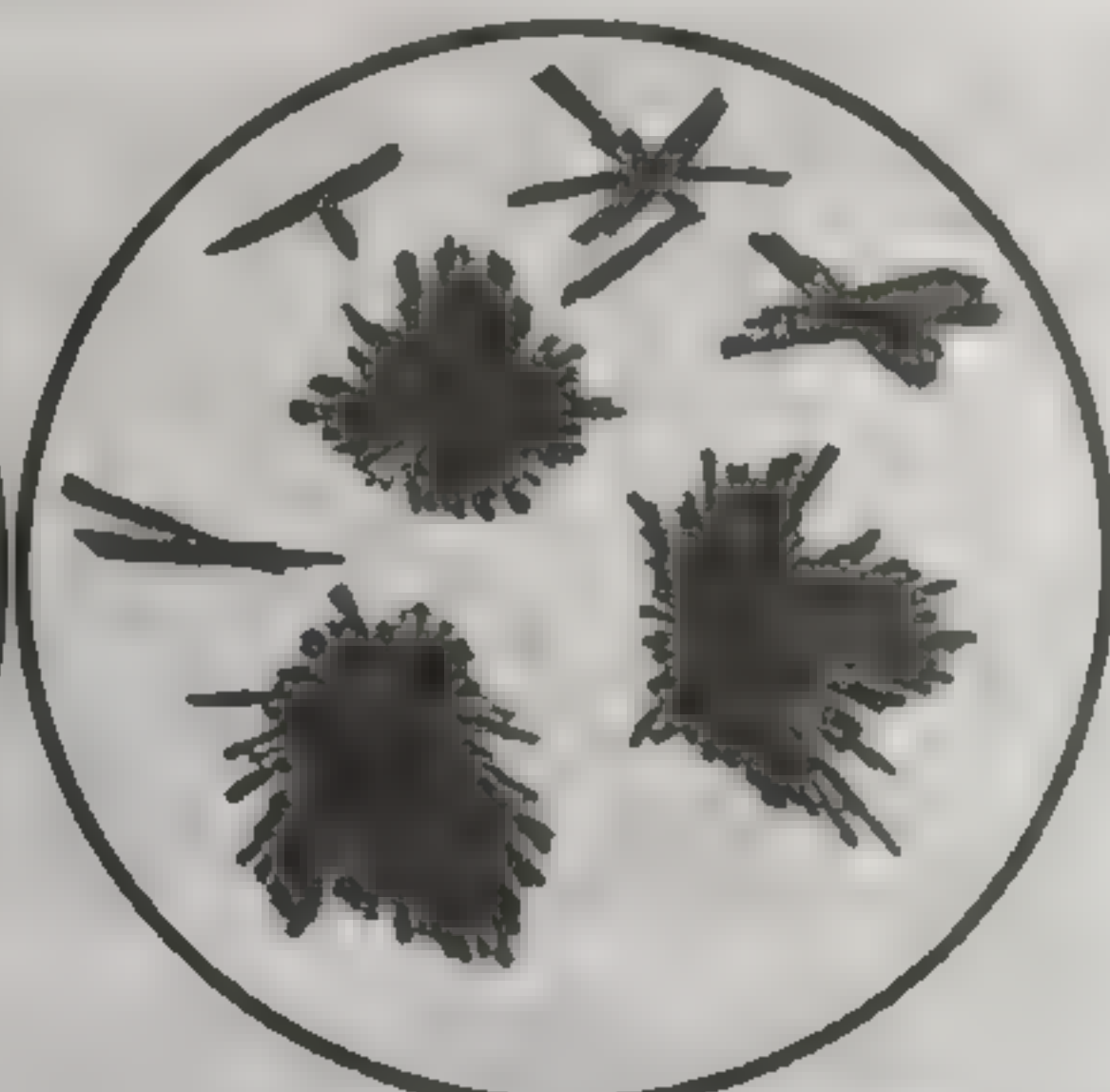
продукт взаимодействия  
хлорцинкйодом



продукт взаимодействия  
с железойодидным реактивом



кислотная форма  
фенобарбитала



продукт взаимодействия  
с железойодидным реактивом



# **V Приложения к занятию 22**

## **Приложение 22.1**

**Федеральный закон от 19.07.97 № 109-ФЗ**

(ред. от 10.01.03)

**«О безопасном обращении с пестицидами  
и агрохимикатами»**

(принят ГД ФС РФ 24.06.97 (по состоянию на 20.10.06))

---

19 июля 1997 года № 109-ФЗ

---

### **РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ**

**Федеральный закон о безопасном обращении  
с пестицидами и агрохимикатами**

Принят Государственной Думой  
24 июня 1997 года

(с изм., согл. Федеральных законов от 10.01.2003 № 1-ФЗ,  
от 10.01.2003 № 15-ФЗ, от 29.06.2004 № 58-ФЗ,  
от 16.10.2006 № 160-ФЗ)

Настоящий Федеральный закон устанавливает правовые основы обеспечения безопасного обращения с пестицидами, в том числе с их действующими веществами, а также с агрохимикатами в целях охраны здоровья людей и окружающей природной среды.

### **ОГЛАВЛЕНИЕ**

#### **Глава I. Общие положения**

**Статья 1. Основные понятия**

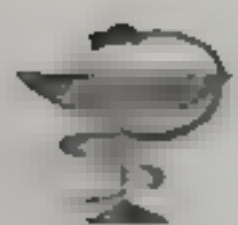
**Статья 2. Правовое регулирование в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**

**Статья 3. Оборотоспособность пестицидов и агрохимикатов**

**Глава II. Полномочия органов государственной власти Российской Федерации, органов государственной власти субъектов Российской Федерации и органов местного самоуправления в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**

**Статья 4. Полномочия органов государственной власти Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**





*Статья 5.* Полномочия органов государственной власти субъектов Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

*Статья 6.* Полномочия органов местного самоуправления в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

**Глава III.** Государственное управление в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами, надзор и контроль за безопасным обращением с пестицидами и агрохимикатами

*Статья 7.* Государственное управление в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

*Статья 8.* Специально уполномоченный федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов

*Статья 9.* Регистрационные испытания пестицидов и агрохимикатов

*Статья 10.* Экспертиза результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов

*Статья 11.* Принципы экспертизы результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов

*Статья 12.* Государственная регистрация пестицидов и агрохимикатов

*Статья 13.* Исключена. — Федеральный закон от 10.01.2003 № 15-ФЗ.

*Статья 14.* Стандартизация и сертификация пестицидов и агрохимикатов

*Статья 15.* Государственный надзор и контроль за безопасным обращением с пестицидами и агрохимикатами

**Глава IV.** Общие требования к безопасному обращению с пестицидами и агрохимикатами

*Статья 16.* Разработка новых пестицидов и агрохимикатов

*Статья 17.* Информация о безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами

*Статья 18.* Производство пестицидов и агрохимикатов

*Статья 19.* Хранение пестицидов и агрохимикатов

*Статья 20.* Транспортировка пестицидов и агрохимикатов

*Статья 21.* Ввоз в Российскую Федерацию и вывоз из Российской Федерации пестицидов и агрохимикатов

*Статья 22.* Применение пестицидов и агрохимикатов

*Статья 23.* Реализация пестицидов и агрохимикатов





**Статья 24.** Обезвреживание, утилизация, уничтожение и захоронение пришедших в негодность и (или) запрещенных к применению пестицидов и агрохимикатов, тары из-под них

**Глава V.** Ответственность за нарушение законодательства Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

**Статья 25.** Ответственность за нарушение законодательства Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

**Глава VI.** Международные договоры Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

**Статья 26.** Международные договоры Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

**Глава VII.** Заключительные положения

**Статья 27.** Вступление настоящего Федерального закона в силу.

Статья 21 настоящего Федерального закона вступает в силу по истечении 30 дней со дня его официального опубликования.

**Статья 28.** Приведение нормативных правовых актов в соответствие с настоящим Федеральным законом

## **Глава I. Общие положения**

**Статья 1.** Основные понятия

В настоящем Федеральном законе используются следующие основные понятия:

пестициды — химические или биологические препараты, используемые для борьбы с вредителями и болезнями растений, сорными растениями, вредителями хранящейся сельскохозяйственной продукции, бытовыми вредителями и внешними паразитами животных, а также для регулирования роста растений, предуборочного удаления листьев (дефолианты), предуборочного подсушивания растений (десиканты);

агрохимикаты — удобрения, химические мелиоранты, кормовые добавки, предназначенные для питания растений, регулирования плодородия почв и подкормки животных. Данное понятие не применяется в отношении торфа, используемого для других целей;

(в ред. Федерального закона от 10.01.2003 № 1-ФЗ)

действующее вещество пестицида — биологически активная часть пестицида, использование которой в виде различных пре-





паративных форм приводит к воздействию на тот или иной вид вредного организма или на рост и развитие растений;

государственная регистрация пестицидов и агрохимикатов — регистрация пестицидов и агрохимикатов, на основании которой федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов, дает разрешения на производство, применение, реализацию, транспортировку, хранение, уничтожение, рекламу, ввоз в Российскую Федерацию и вывоз из Российской Федерации пестицидов и агрохимикатов;

регламент применения пестицидов и агрохимикатов — обязательные требования к условиям и порядку применения пестицидов и агрохимикатов;

разработчик — гражданин или юридическое лицо, осуществляющие получение пестицидов или агрохимикатов, исследования их активности, токсикологических свойств и влияния на окружающую природную среду;

изготовитель — гражданин или юридическое лицо, осуществляющие производство пестицидов и агрохимикатов;

фитосанитарная обстановка — состояние земель, лесов и растительности, определяемое численностью вредителей растений, распространением болезней растений и наличием сорных растений;

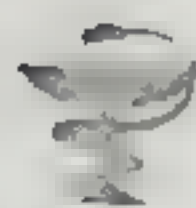
фитосанитарный мониторинг — прогноз и установление наиболее вероятного уровня распространения, численности, интенсивности развития и вредоносности организмов.

## Статья 2. Правовое регулирование в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

Правовое регулирование в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами осуществляется настоящим Федеральным законом, законами и иными нормативными правовыми актами Российской Федерации, а также законами и иными нормативными правовыми актами субъектов Российской Федерации.

Законодательство Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами регулирует отношения, возникающие при осуществлении государственного управления в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами, а также при разработке, производстве, реализации, хранении, транспортировке, применении, обезвреживании, утилизации, уничтожении, захоронении, при ввозе в Рос-





снейскую Федерацию и вывозе из Российской Федерации пестицидов и агрохимикатов.

(в ред. Федерального закона от 16.10.2006 № 160-ФЗ)

**Статья 3. Оборотоспособность пестицидов и агрохимикатов**

Пестициды и агрохимикаты могут свободно отчуждаться или переходить от одного лица к другому иными способами в порядке, установленном законодательством Российской Федерации, если они не изъяты из оборота или не ограничены в обороте.

Не допускается оборот пестицидов и агрохимикатов, которые не внесены в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации.

Оборот пестицидов ограниченного использования, которые имеют устанавливающуюся в результате регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов повышенную вероятность негативного воздействия на здоровье людей и окружающую природную среду, осуществляется на основании специального разрешения.

## **Глава II. Полномочия органов государственной власти Российской Федерации, органов государственной власти субъектов Российской Федерации и органов местного самоуправления в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**

**Статья 4. Полномочия органов государственной власти Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**

К полномочиям органов государственной власти Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами относятся:

принятие федеральных законов и иных нормативных правовых актов в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами;

проведение в Российской Федерации единой государственной политики в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами;

осуществление государственного контроля за исполнением законодательства Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами;

абзац исключен. — Федеральный закон от 10.01.2003 № 15-ФЗ;





организация регистрационных испытаний, экспертизы результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов, государственной регистрации пестицидов и агрохимикатов и определение федерального органа исполнительной власти в области испытания и регистрации пестицидов и агрохимикатов;

организация работ по стандартизации и сертификации пестицидов и агрохимикатов;

осуществление международного сотрудничества в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами;

осуществление других полномочий, предусмотренных законодательством Российской Федерации.

**Статья 5. Полномочия органов государственной власти субъектов Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**

К полномочиям органов государственной власти субъектов Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами относятся:

исполнение законодательства Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами;

обеспечение соответствия законодательства субъектов Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами законодательству Российской Федерации и контроль за его исполнением;

другие полномочия, не отнесенные к полномочиям органов государственной власти Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами.

**Статья 6. Полномочия органов местного самоуправления в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**

Органы местного самоуправления могут наделяться отдельными государственными полномочиями в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами в порядке, установленном законодательством Российской Федерации.

**Глава III. Государственное управление в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами, надзор и контроль за безопасным обращением с пестицидами и агрохимикатами**

**Статья 7. Государственное управление в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**





Государственное управление в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами осуществляет Правительство Российской Федерации непосредственно или через специально уполномоченные им федеральные органы исполнительной власти.

Специально уполномоченные федеральные органы исполнительной власти в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами осуществляют свою деятельность в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами в соответствии с положениями, утвержденными Правительством Российской Федерации.

*Статья 8. Специально уполномоченный федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов*

Организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов осуществляет специально уполномоченный федеральный орган исполнительной власти в соответствии с положением, утвержденным Правительством Российской Федерации.

*Статья 9. Регистрационные испытания пестицидов и агрохимикатов*

Регистрационные испытания пестицидов и агрохимикатов проводятся для разработки и обоснования регламентов применения пестицидов и агрохимикатов. Указанные регламенты обеспечивают эффективность применения пестицидов и агрохимикатов и их безопасность для здоровья человека, окружающей природной среды.

Регистрационные испытания пестицидов и агрохимикатов осуществляют юридические лица, которые имеют необходимое для этого научное и материально-техническое обеспечение, специалистов соответствующего профиля и квалификации и допущены специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов, к проведению данных испытаний.

Регистрационные испытания пестицидов и агрохимикатов включают в себя:

определение эффективности применения пестицидов и агрохимикатов и разработку регламентов их применения;





оценку опасности негативного воздействия пестицидов и агрохимикатов на здоровье людей и разработку гигиенических нормативов, санитарных норм и правил;

экологическую оценку регламентов применения пестицидов и агрохимикатов;

экспертизу результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов.

Граждане или юридические лица, подавшие заявки на государственную регистрацию пестицидов и (или) агрохимикатов, обязаны:

предоставлять бесплатно образцы пестицидов и (или) агрохимикатов для проведения регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов;

оплачивать регистрационные испытания заявленных пестицидов и (или) агрохимикатов.

**Статья 10. Экспертиза результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов**

Экспертиза результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов включает в себя:

государственную экологическую экспертизу пестицидов и агрохимикатов, осуществляемую специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти в области охраны окружающей природной среды;

токсиколого-гигиеническую экспертизу, осуществляемую специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти в области государственного санитарно-эпидемиологического надзора;

экспертизу регламентов применения пестицидов и агрохимикатов, организуемую специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов.

Порядок проведения экспертизы результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов определяется в соответствии с законодательством Российской Федерации.

**Статья 11. Принципы экспертизы результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов**

Экспертиза результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов основывается на принципах:

обязательности ее проведения;





научной обоснованности ее выводов;  
независимости экспертов при осуществлении ими своих полномочий;  
платности ее проведения.

Срок проведения экспертизы не должен превышать шесть месяцев.

Граждане или юридические лица, подавшие заявки на государственную регистрацию пестицидов и (или) агрохимикатов, а также разработчики не вправе участвовать в экспертизе результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов.

Заключение экспертизы результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов может быть обжаловано в судебном порядке.

Порядок и организацию проведения экспертизы результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов определяет специально уполномоченный федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов, по согласованию со специально уполномоченными федеральными органами исполнительной власти в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами.

**Статья 12. Государственная регистрация пестицидов и агрохимикатов**

Государственная регистрация пестицидов и агрохимикатов проводится специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов, на основе заключений экспертизы результатов регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов на срок два года в случае необходимости проведения дополнительных исследований по оценке опасности негативного воздействия пестицидов и агрохимикатов на здоровье людей и окружающую природную среду. В остальных случаях государственная регистрация пестицидов и агрохимикатов осуществляется на срок десять лет.

Порядок государственной регистрации пестицидов и агрохимикатов устанавливается специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов.





Гражданину или юридическому лицу по решению специально уполномоченного федерального органа исполнительной власти, осуществляющего организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов, выдается регистрационное свидетельство о государственной регистрации пестицида и (или) агрохимиката. Форма данного регистрационного свидетельства устанавливается специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов.

Пестицид или агрохимикат вносится в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации.

Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, ведет специально уполномоченный федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов.

*Статья 13. Исключена. — Федеральный закон от 10.01.2003 № 15-ФЗ.*

*Статья 14. Стандартизация и сертификация пестицидов и агрохимикатов*

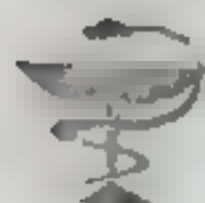
Пестициды и агрохимикаты производятся в соответствии со стандартами и иными нормативными документами, согласованными со специально уполномоченными федеральными органами исполнительной власти в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами и утвержденными в порядке, установленном законодательством Российской Федерации.

Пестициды и агрохимикаты подлежат сертификации на соответствие требованиям к безопасному обращению с пестицидами и агрохимикатами в порядке, установленном специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов.

*Статья 15. Государственный надзор и контроль за безопасным обращением с пестицидами и агрохимикатами*

Государственный надзор и контроль за безопасным обращением с пестицидами и агрохимикатами осуществляют специ-





ально уполномоченные федеральные органы исполнительной власти в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами.

Порядок осуществления государственного надзора и контроля за безопасным обращением с пестицидами и агрохимикатами устанавливается законодательством Российской Федерации.

#### **Глава IV. Общие требования к безопасному обращению с пестицидами и агрохимикатами**

##### **Статья 16. Разработка новых пестицидов и агрохимикатов**

При разработке новых пестицидов и агрохимикатов должны применяться условия труда, способы охраны здоровья людей, окружающей природной среды и методы контроля в этой области, которые полностью исключают или снижают до минимума опасность негативного воздействия пестицидов и агрохимикатов на здоровье людей и окружающую природную среду.

Разработчик обязан провести исследования полученных пестицидов или агрохимикатов по выявлению их токсикологических свойств, влияния на окружающую природную среду для обеспечения мер по безопасному обращению с ними.

##### **Статья 17. Информация о безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами**

В целях обеспечения потребителей информацией о безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами граждане или юридические лица, подавшие заявки на государственную регистрацию пестицидов и (или) агрохимикатов, обеспечивают при государственной регистрации представление рекомендаций о транспортировке, применении и хранении пестицидов и агрохимикатов и тарной этикетки с предупредительной маркировкой.

Требования к форме и порядку утверждения рекомендаций о транспортировке, применении и хранении пестицидов и агрохимикатов и к тарной этикетке устанавливает специально уполномоченный федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов.

При реализации пестицидов и агрохимикатов продавец (поставщик) обязан обеспечить каждую единицу емкости с пестицидом или агрохимикатом рекомендациями о применении, транспортировке и хранении пестицидов и агрохимикатов и тарной этикеткой.





Части четвертая–пятая утратили силу. — Федеральный закон от 16.10.2006 № 160-ФЗ.

**Статья 18. Производство пестицидов и агрохимикатов**  
**Изготовитель обязан:**

обеспечивать производство пестицидов и агрохимикатов в соответствии с нормативной документацией;

обеспечивать выпуск пестицидов и агрохимикатов в расфасовке, удобной для потребителей, в том числе для розничной торговли;

обеспечивать выпуск аналитических стандартов (тестов) в целях контроля микроколичеств пестицидов и агрохимикатов в сельскохозяйственной продукции, лекарственном сырье и продуктах питания, окружающей природной среде;

прекращать реализацию пестицидов и агрохимикатов и осуществлять их утилизацию в случаях, если безопасное применение данных пестицидов и агрохимикатов становится невозможным при выполнении рекомендаций о применении, транспортировке и хранении пестицидов и агрохимикатов или при соблюдении ограничений по применению пестицидов и агрохимикатов.

Запрещается производство пестицидов и агрохимикатов, не прошедших государственную регистрацию.

**Статья 19. Хранение пестицидов и агрохимикатов**

Хранение пестицидов и агрохимикатов разрешается в специализированных хранилищах, предназначенных только для их хранения.

Запрещается бестарное хранение пестицидов.

При хранении пестицидов и агрохимикатов необходимо соблюдать требования, исключающие причинение вреда здоровью людей и окружающей природной среде.

Требования к хранению пестицидов и агрохимикатов устанавливаются федеральными органами исполнительной власти в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами.

**Статья 20. Транспортировка пестицидов и агрохимикатов**

Транспортировка пестицидов и агрохимикатов допускается только в специально оборудованных транспортных средствах.

При транспортировке пестицидов и агрохимикатов необходимо соблюдать требования, которые установлены законодательством Российской Федерации и издаваемыми специально уполномоченными органами исполнительной власти Российской Феде-





рации в соответствии с ним правилами и которые исключают возможность негативного воздействия пестицидов и агрохимикатов на здоровье людей и окружающую природную среду.

**Статья 21.** Ввоз в Российскую Федерацию и вывоз из Российской Федерации пестицидов и агрохимикатов

Ввоз в Российскую Федерацию и вывоз из Российской Федерации пестицидов и агрохимикатов осуществляются в порядке, установленном федеральными законами и иными нормативными правовыми актами Российской Федерации, при наличии регистрационного свидетельства о государственной регистрации пестицида и (или) агрохимиката, выдаваемого специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов.

В договорах о купле-продаже и транспортировке пестицидов и агрохимикатов должно быть предусмотрено условие о наличии регистрационного свидетельства о государственной регистрации пестицида и (или) агрохимиката, выданного специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов.

Порядок ввоза в Российскую Федерацию и вывоза из Российской Федерации пестицидов и агрохимикатов устанавливается федеральным министерством, осуществляющим нормативно-правовое регулирование в области таможенного дела, и специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим организацию регистрационных испытаний и государственную регистрацию пестицидов и агрохимикатов, в соответствии с законодательством Российской Федерации.

*(в ред. Федерального закона от 29.06.2004 № 58-ФЗ)*

Вывоз пестицидов и агрохимикатов с территории Российской Федерации осуществляется в соответствии с законодательством Российской Федерации.

**Статья 22.** Применение пестицидов и агрохимикатов

Порядок применения пестицидов и агрохимикатов определяется федеральными органами исполнительной власти в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами с учетом фитосанитарной, санитарной и экологической обстановки, потребностей растений в агрохимикатах, состояния плодородия земель (почв), а также с учетом рационов животных.





Безопасность применения пестицидов и агрохимикатов обеспечивается соблюдением установленных регламентов и правил применения пестицидов и агрохимикатов, исключающих их негативное воздействие на здоровье людей и окружающую природную среду.

Пестициды и агрохимикаты применяются только при использовании специальной техники и оборудования.

Применение пестицидов ограниченного использования должно осуществляться на основании специальных разрешений специально уполномоченного федерального органа исполнительной власти только гражданами, имеющими специальную профессиональную подготовку.

### Статья 23. Реализация пестицидов и агрохимикатов

Граждане и юридические лица, осуществляющие оптовую и розничную торговлю, имеют право приобретать и реализовывать пестициды и агрохимикаты, прошедшие государственную регистрацию и внесенные в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, в соответствии с законодательством Российской Федерации.

*(в ред. Федерального закона от 10.01.2003 № 15-ФЗ)*

Реализация пестицидов ограниченного использования осуществляется только гражданам, имеющим специальную профессиональную подготовку.

Статья 24. Обезвреживание, утилизация, уничтожение и захоронение пришедших в негодность и (или) запрещенных к применению пестицидов и агрохимикатов, тары из-под них

Обезвреживание, утилизация, уничтожение и захоронение пришедших в негодность и (или) запрещенных к применению пестицидов и агрохимикатов; а также тары из-под них обеспечиваются гражданами и юридическими лицами в соответствии с законодательством Российской Федерации.

Методы уничтожения пришедших в негодность и (или) запрещенных к применению пестицидов и агрохимикатов, а также тары из-под них разрабатываются изготовителями пестицидов и агрохимикатов по согласованию со специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти в области охраны окружающей природной среды и специально уполномоченным федеральным органом исполнительной власти в области государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

Глава V  
Российс

Статья  
Российской  
тицидами  
Лица, в  
Федерации  
агрохимик  
нодательст

Глава  
Ф

Статья  
ции в обла  
микатами

Если ме  
тановлены  
стоящим Ф  
народного

Статья  
силу

Настоя  
официальн

Статья  
по истечени

Статья  
ответствие

Поручи  
соответстви

тивные пра

Президент  
Российской  
В.ЕЛЬЦИН



## **Глава V. Ответственность за нарушение законодательства Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**

*Статья 25.* Ответственность за нарушение законодательства Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

Лица, виновные в нарушении законодательства Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами, несут ответственность в соответствии с законодательством Российской Федерации.

## **Глава VI. Международные договоры Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами**

*Статья 26.* Международные договоры Российской Федерации в области безопасного обращения с пестицидами и агрохимикатами

Если международным договором Российской Федерации установлены иные правила, чем те, которые предусмотрены настоящим Федеральным законом, применяются правила международного договора.

## **Глава VII. Заключительные положения**

*Статья 27.* Вступление настоящего Федерального закона в силу

Настоящий Федеральный закон вступает в силу со дня его официального опубликования.

Статья 21 настоящего Федерального закона вступает в силу по истечении 30 дней со дня его официального опубликования.

*Статья 28.* Приведение нормативных правовых актов в соответствие с настоящим Федеральным законом

Поручить Правительству Российской Федерации привести в соответствие с настоящим Федеральным законом свои нормативные правовые акты.

Президент  
Российской Федерации  
Б.ЕЛЬЦИН

Москва, Кремль  
19 июля 1997 года  
№ 109-ФЗ

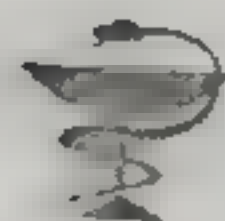




## Приложение 22.2. Список пестицидов, определяемых Центром санэпиднадзора РФ

Пестицид (тип, химический класс)	Допустимая остаточная концентрация (ДОК), метод ее определения
1. ГХЦГ, инсектицид, гепта-хлорциклогексан	0,5 мг/кг, ТСХ
2. ГХЦГ, инсектицид, гекса-хлорциклогексан	0,5 мг/кг, ТСХ
3. ДДТ, инсектицид, дихлор-дифенилтрихлорметилметан	0,1 мг/кг в овощах, в других продуктах не допуска- ется, ГЖХ, ТСХ
4. Гептахлор, инсектицид, хлорорганический	Не допускается, ТСХ
5. Хлорофос, инсектицид, ФОС	Не допускается, ТСХ или коло- риметрически
6. Метафос, инсектицид, ФОС	Не допускается, ГЖХ
7. Фосфамид, инсектицид, ФОС	В плодах 1 мг/кг, ГЖХ или ко- лориметрически
8. Фозалон, инсектицид, ФОС	В растительных продуктах 0,2 мг/кг, ГЖХ или колоримет- рически
9. Актеллик, инсектицид, ФОС	0,05–10 мг/кг, ГЖХ
10. Антио, инсектицид, ФОС	0,2 мг/кг, ТСХ или колоримет- рически
11. Карбофос, инсектицид, ФОС	В муке, крупе — 3 мг/кг, в плодах и овощах — 1 мг/кг, ГЖХ
12. Метатион, инсектицид, ФОС	0,1 мг/кг, ГЖХ
13. Базагран, гербицид, тиа- дiazин	В зерновых 0,1 мг/кг, ГЖХ
14. Пропанид, гербицид, ани- лид карбоновой кислоты	В рисе 0,3 мг/кг, ТСХ
15. Сатурн, гербицид, тиокар- бамат	В рисе не допускается, ГЖХ





Продолжение табл.

Пестицид (тип, химический класс)	Допустимая остаточная концентрация (ДОК), метод ее определения
16. Ридомил, фунгицид, арил-ацил-аланин	В зерне 0,02 мг/кг, ГЖХ
17. Каратан, акарицид и фунгицид, нитрофенол	0,1 мг/кг, ТСХ
18. Децис, инсектицид, пиретроид	В семечковых 0,1 мг/кг, картофеле 0,01 мг/кг, овощах и фруктах 0,05 мг/кг, ГЖХ
19. Трефлан, гербицид, динитроанилин	В овощах 0,05 мг/кг
20. Прометрин, гербицид, триазин	В картофеле и овощах — 0,1 мг/кг, в моркови не допускается, ТСХ
21. 2,4 Д — а.с. гербицид, феноксифосфат	Не допускается, ГЖХ или ТСХ
22. Фундазол фунгицид карбамат	В зерне — 1 мг/кг, фруктах и овощах — 0,5, ТСХ
23. Лонтрел, гербицид, пиридинкарбоновая кислота	Не установлен, практически содержится 0,6 — 0,02 мг/кг, ГЖХ
24. Ялан (ордрам), гербицид, тиокарбамат	В рисе 0,2 мг/кг, ГЖХ
25. Симазин, гербицид, триазин	В зерновых 1 мг, фруктах — 0,2, в винограде, ТСХ
26. Даконил, фунгицид, бензодинитрил	В томатах — 0,5, в зерне — 0,3, картофеле — 0,05 мг/кг, ГЖХ или ТСХ
27. Феназон, гербицид, пиридазин	В корнеплодах и сахарной свекле 0,1 мг/кг, ТСХ
28. Рубиган, фунгицид, пириимидин	ГЖХ
29. Апплауд, инсектицид, тиadiaзин	ГЖХ
30. Голтикс, гербицид, триазин	В сахарной свекле 0,05 мг/кг, ГЖХ





Продолжение табл.

Пестицид (тип, химический класс)	Допустимая остаточная концентрация (ДОК), метод ее определения
31. Фуроре-супер, гербицид, арилоксифеноксикалканкарбоновая к-та	Не определен
32. Банвел-Д, гербицид, дихлорбензойная кислота	В молоке 0,05, в зерновых 0,5 мг/кг, ТСХ
33. Ацетал, гербицид, хлор-ацетанилид	Не определен
34. Байлетон, фунгицид, триазол	В огурцах, томатах 0,5 мг/кг, ГЖХ
35. Рамрод гербицид хлорацетанилид	Капуста и др. овощи — 0,2 0,2 мг/кг, ТСХ
36. Каратэ (галотрин), инсект-роакарицид, пиретроид	Не определен, ГЖХ
37. Рицид II, фунгицид, ФОС	Не допускается, ГЖХ
38. Цимбуш, инсектицид, пиретроид	В растительных продуктах 0,01–1мг/кг, ГЖХ
39. Тарга, гербицид, арилоксифеноксикалканкарбоновая к-та	В сое 0,008–0,01 мг, сахарной свекле — 0,001 мг/кг, ГЖХ
40. Бетанал (бурефен), гербицид, карбамат	В сахарной свекле 0,2 мг/кг, ТСХ
41. Ковбой (дикамба), гербицид, дихлорбензойная кислота	В молоке 0,05, в зерновых — 0,5 мг/кг, ТСХ
42. Зенкор, гербицид, триазин	В картофеле и томатах 0,1 мг/кг, ТСХ
43. Иллоксан, гербицид, арилоксифеноксипропионовая к-та	В продовольственных культурах 0,1 мг/кг, ТСХ
44. Стомп, гербицид, динитроанилин	В семенах хлопка 0,1 мг/кг, ТСХ или ГЖХ
45. Спортак, фунгицид, имидазол	Не определен, ГЖХ
46. Тилт, фунгицид, триазол	В зерне 0,02 мг/кг, ГЖХ
47. Топаз, фунгицид, триазол	Не определен, ГЖХ





Продолжение табл.

Пестицид (тип, химический класс)	Допустимая остаточная концентрация (ДОК), метод ее определения
48. 2М-4Х, гербицид, метил-хлорфеноксиуксусная к-та	В зерне 0,05 мг/кг, ГЖХ, ТСХ
49. Импакт, фунгицид, триазол	В зерне ячменя и пшеницы 0,01–0,09 мг/кг, ГЖХ
50. Солнет гербицид	Не определен, ГЖХ
51. Сумицидин, инсектицид, эфир хлорбутановой кислоты	Во фруктах 0,4 мг/кг, в других пищевых продуктах 0,05 мг/кг, ГЖХ
52. Аполо, инсектицид, тетра-зин	Не определен, ГЖХ
53. Ронстар, гербицид, окса-диазолинон	Не определен, ГЖХ
54. Ровраль, фунгицид, ими-дазолидин	Для ягод 10 мг/кг, ГХ
55. Бетанал (бурефен), герби-цид, арилкарбаминовая к-та	В сахарной свекле 0,2 гм/кг, ТСХ
56. Амбуш (перметрин), ин-сектицид, пиретроид	В пищевых продуктах 0,05, в картофеле 0,01 мг/кг, ГЖХ
57. Циперметрин, инсекти-цид, пиретроид	В растительных продуктах 0,01–1 мг/кг, ГЖХ
58. Фузилад, гербицид, ари-локсифеноксипропионовая к-та	Не определен, ГЖХ
59. Апплауд, инсектицид, тиadiaзин	Не определен, ГЖХ
60. Лонтрел, гербицид, ди-хлорпиридинкарбоновая к-та	Не определен, ГЖХ
61. Банкол, инсектицид, фе-нилсульфонилтиопропан	Не определен, ГЖХ
62. Зеллек, гербицид, пириди-локсифеноксипропионовая к-та	Не определен, ГЖХ
63. 2,4-Д-бутиловый эфир, гербицид, дихлорфеноксиук-сусной к-ты бутиловый эфир	Не допускается, ГЖХ





## Приложения

*Продолжение табл.*

Пестицид (тип, химический класс)	Допустимая остаточная концентрация (ДОК), метод ее определения
64. Оксадиксил, фунгицид, диметиланилин	ГХ
65. Гоал, гербицид, дифениловый эфир	Не определен, ГЖХ
66. Пропазин, гербицид, триазин	В зерновых 0,2, в моркови не допускается, ТСХ
67. Эрадикан, гербицид, оксазолин	В кукурузе 0,05 мг/кг, ТСХ
68. Ронит, гербицид, тиокарбамат	В свекле 0,3 мг/кг, ТСХ или спектрофотометрически
69. Севин, инсектицид, нафтилметилкарбамат	Не допускается, ТСХ или колориметрически
70. Бенлат фунгицид карбамат	В зерне 1 мг/кг, во фруктах и овощах 0,5 мг/кг, ТСХ
71. Неорон, инсектицид эфир, дибромбензиловой кислоты	В продуктах питания 0,02 мг/кг, ТСХ
72. Кельтан, инсектицид, производное ДДТ	В продуктах питания 1 мг/кг, ТСХ



## V Приложения к занятию 23

### Приложение 23.1. Оценка токсичности элементной ртути в жидкой фазе

Токсичность элементной ртути обычно связывают с отравлениями парами металла (ВОЗ). Но отравления ртути в нулевой степени окисления  $\text{Hg}^0$  могут происходить при лечении ртутно-серной мазью педикулеза или различных способах введения металлической ртути (перорально, внутривенно, внутримышечно, через уретру), а также в результате продолжающегося использования даже в развитых странах амальгамных пломб (2007, США). При отравлениях жидкой металлической ртутью  $\text{Hg}^0_{\text{ж}}$  токсические дозы, а также токсико-динамические и токсико-кинетические параметры абсорбции, распределения, элиминации ртути освещены в литературе явно недостаточно. В то же время, по данным Бюро судебно-медицинской экспертизы одного из крупных мегаполисов России, за период 1996–2007 гг. среди 48 ртутных отравлений пять случаев были связаны с поступлением ртути в организм из жидкофазного состояния.

**Методика определения ртути.** Для подготовки проб мочи для анализа к 10 мл суточной мочи, помещенной в кварцевую колбу, добавляли 2 мл концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0,4 г  $\text{KMnO}_4$  и оставляли на ночь. Избыток  $\text{KMnO}_4$  удаляли, добавив в каждую колбу небольшое количество щавелевой кислоты. После обесцвечивания содержимое колбы количественно переносили в мерную колбу на 50 мл и доводили до метки дистиллированной  $\text{H}_2\text{O}$ . Далее определение ртути проводили методом атомной абсорбции с холодным паром.

Описанную методику применяли во всех случаях отравлений, включая отравления жидкой ртутью (рис. 23.1).

Так, при отравлении с суицидальной целью женщина 32 лет ввела себе внутривенно металлическую ртуть (содержимое 9 термометров). При обследовании на рентгенограмме легких были обнаружены множественные участки накопления металлической ртути, преимущественно в базальных и нижних отделах.

Ртуть концентрировалась также в полости сердца, в связи с чем была предпринята попытка удаления ее эндоваскулярным путем под контролем ангиографии (кардиохирургическое отделение).



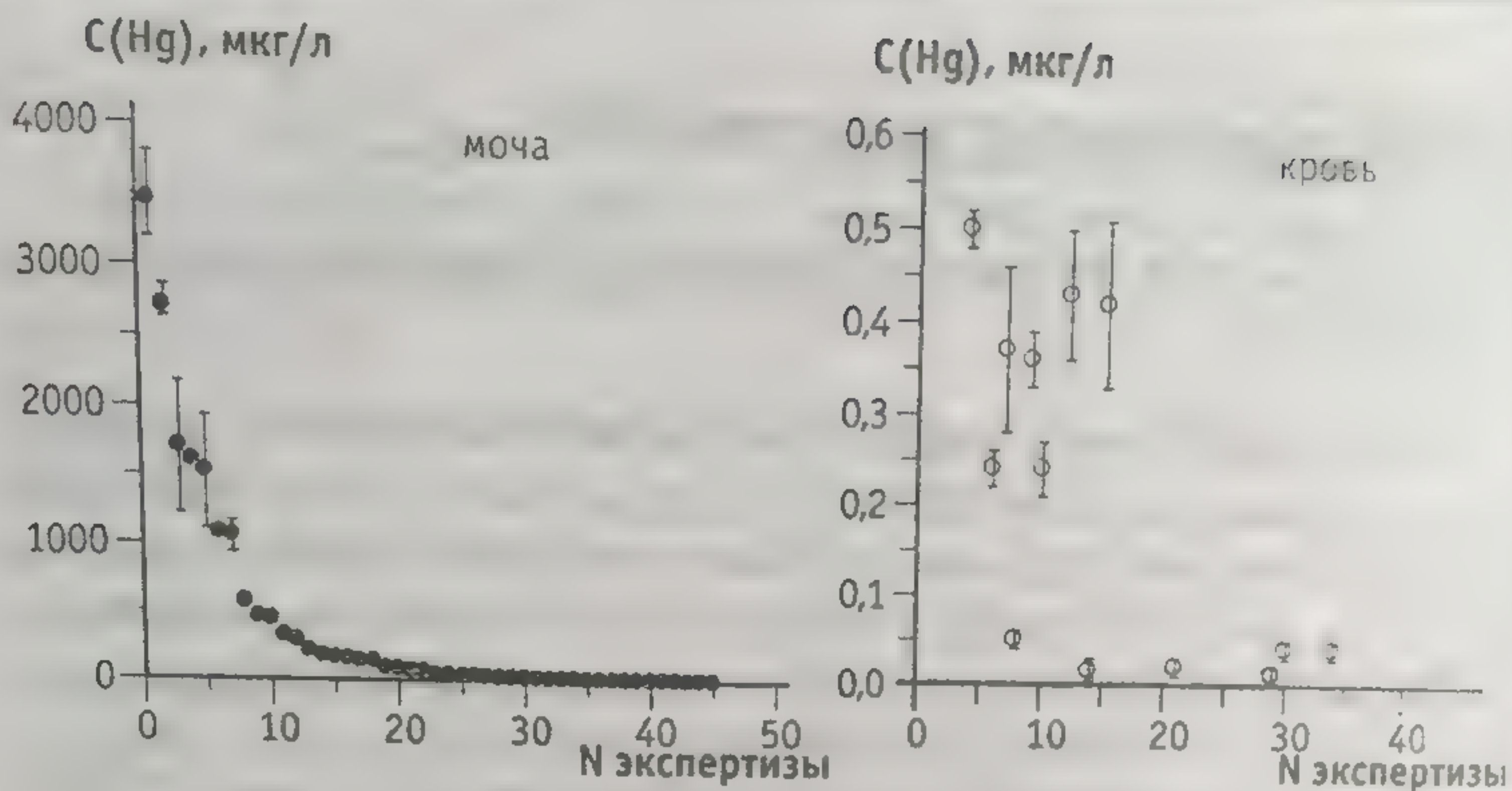
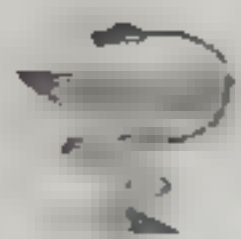


Рис. 23.1. Результаты определения ртути в моче и крови при отравлениях

Депонированная элементная ртуть может окисляться до ионного состояния пероксидом водорода при участии каталазы:



Распределение образующегося иона ртути происходит с одновременным связыванием с тиоловыми или гидроксильными группами, что отражено на диаграмме рН-потенциал (рис. 23.2).

На органном уровне эти химические процессы сопровождаются поражением почек и неврологическими нарушениями.

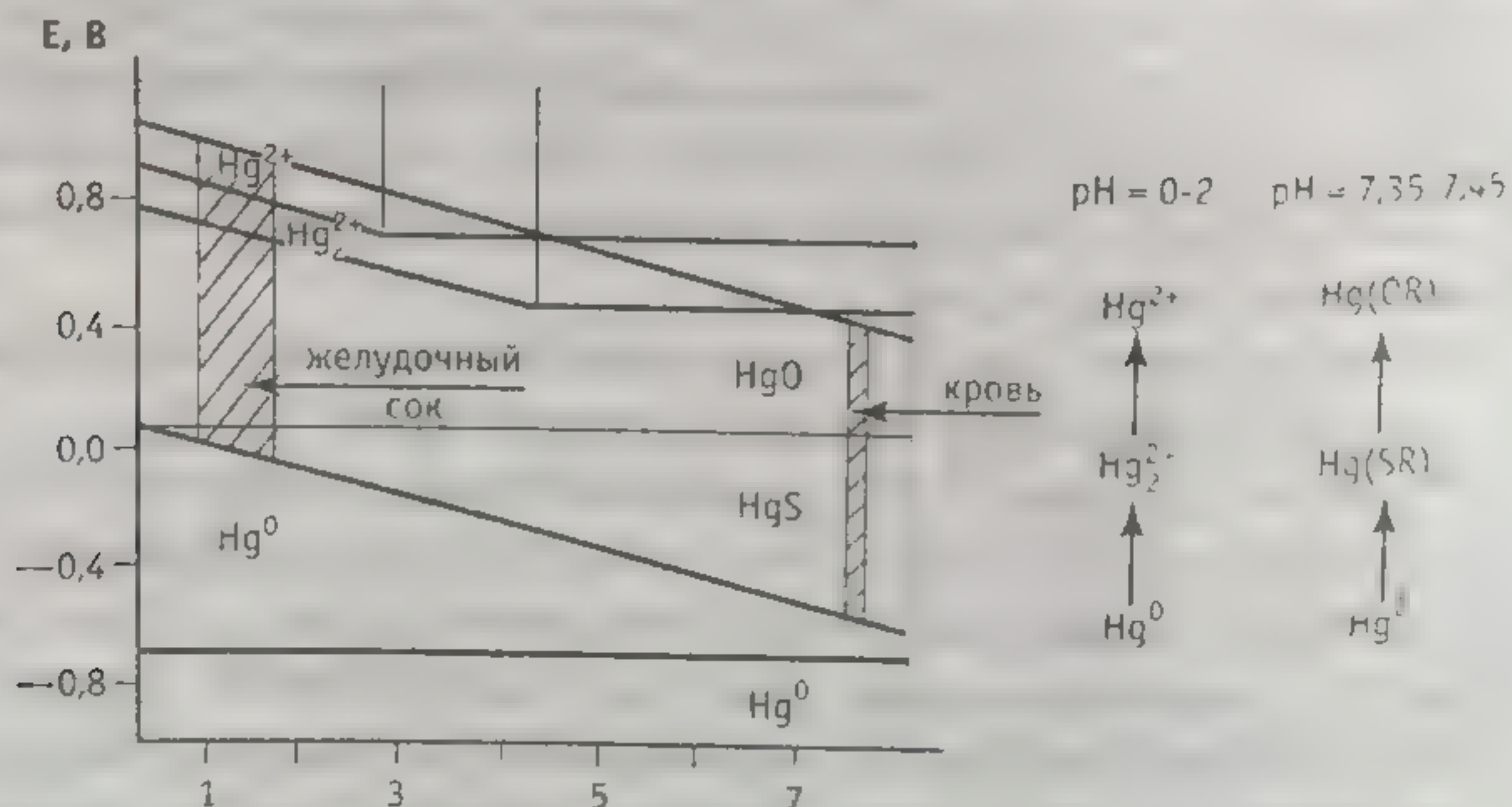


Рис. 23.2. Диаграмма Пурбэ для ртути и молекулярно-ионные механизмы токсичности элементной ртути при разных рН и окислительно-восстановительных потенциалах



Анализ суточной мочи, проведенный через 25 сут после отравления, продемонстрировал повышенное содержание ртути в суточной моче —  $(1250 \pm 65)$  мкг/л. Через 1,5 месяца после отравления на фоне антидотной терапии унитиолом (в/в и в/м) с форсированным диурезом содержание ртути в моче снизилось до  $(1070 \pm 70)$  мкг/л. Через год на фоне постоянного приема куприла содержание ртути снизилось до фоновых значений  $(0,94 \pm 0,06)$  мкг/л. Аналитическое исследование крови продемонстрировало значительные колебания содержания ртути во времени и, как следствие, отсутствие корреляции с результатами анализа мочи (см. рис. 23.1).

Таким образом, наличие межфазной границы между двумя несмешивающимися жидкостями в системе « $\text{Hg}_\text{ж}$  — жидкие среды организма» не предохраняет человека от меркуриализма в связи с ионизацией металлической ртути и участия ее в токсическом воздействии на ионно-атомном, молекулярном, субклеточном, клеточном, органном и организменном уровнях.

### Приложение 23.2. Проблемы отравления соединениями таллия: прошлое, настоящее, будущее

По статистике Бюро судебно-медицинской экспертизы одного из мегаполисов, в 2006 г. на анализ поступило более 20 образцов биоматериалов лиц, отравившихся соединениями таллия. За период с 1996 г. было проанализировано более 50 проб биоматериалов, содержащих таллий. В отличие от США и ряда западноевропейских стран во многих регионах Российской Федерации и некоторых странах СНГ продолжают применять соединения таллия в качестве пестицидов: родентицидов ( $\text{Tl}_2\text{SO}_4$ ) и фунгицидов ( $\text{Tl}_2\text{CO}_3$ ). Таллиевые интоксикации наблюдаются у рабочих цементных заводов, предприятий электронной промышленности, специальных спектральных стекол и низкотемпературных термометров. Бесконтрольный доступ к химическим реактивам — причина суицидальных и преднамеренных отравлений человека.

Ион  $\text{Tl}^+$  — химический аналог щелочных металлов, в первую очередь близкого по размеру иона калия:  $r(\text{Tl}^+) = 137$  пм,  $r(\text{K}^+) = 148$  пм. Свойства  $\text{Tl}^{3+}$  во многом схожи со свойствами иона алюминия  $\text{Al}^{3+}$ . В связи с низкой растворимостью гидроксида и основных солей соединения таллия (III) менее токсичны



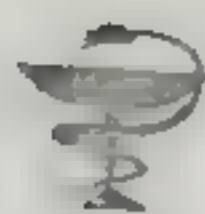


по сравнению с соединениями таллия (I). Токсичность  $Tl^3$  проявляется в связи с его окислительным действием на биомолекулы. В жидких средах организма таллий присутствует в виде комплексов с биогенными лигандами, но исключительно в степени окисления +1. Такие химические формы таллия, как  $Tl^+$  и  $Tl^{3+}$ , участвуют в окислительно-восстановительных равновесиях ( $Tl^{3+} \leftrightarrow Tl^+ \leftrightarrow Tl^0$ ), которые смещены в сторону иона  $Tl^+$ . Свидетельством этому являются значения стандартных потенциалов окислительно-восстановительных пар  $Tl^{3+}/Tl^+$  ( $E^0 = +1,28$  В) и  $Tl^+/Tl^0$  ( $E^0 = -0,357$  В). Механизмы токсичности таллия (I) чаще всего связывают с замещением ионов изоморфного  $K^+$  и блокированием тиоловых групп ферментов. Спектр ионно-молекулярных механизмов токсичности таллия может включать образование малорастворимых хлорида  $TlCl$  ( $K_{пр} = 1,7 \cdot 10^{-4}$ ), ортофосфата  $Tl_3PO_4$  ( $K_{пр} = 6,7 \cdot 10^{-8}$ ) и координационных соединений с центральным атомом железа (II) типа  $Tl_4[Fe(L)_6]$ . Эти процессы, к сожалению, не обсуждаются в литературе, хотя значимость их несомненна. Ионные равновесия с участием анионов  $Cl^-$  и  $PO_4^{3-}$ , снижение емкости внутриклеточного фосфатного буфера, нарушение гомогенности жидких компартментов организма — далеко не полный перечень возможных патологий биохимических процессов. В целом молекулярные механизмы токсичности таллия изучены недостаточно.

По данным различных авторов, летальная доза (per os)  $Tl_2SO_4$  для человека равна примерно 5–50 мг/кг в зависимости от индивидуальной чувствительности и возраста. Чаще всего указывается значение 10–15 мг/кг массы тела для взрослого человека. Смертельные случаи наблюдались при дозе 8 мг/кг. Для человека доза 8 мг таллия ацетата, рассчитанная на 1 кг массы тела, смертельна. При абсорбции через кожу отравление наступает при содержании  $Tl_2SO_4$  в воздухе в пересчете на таллий  $0,1$  мг/м<sup>3</sup>.

В нормальных условиях суточное поступление таллия в организм человека с продуктами питания и водой составляет 1,6–2,0 мкг, с вдыхаемым воздухом — 0,05 мкг. Выделение происходит главным образом через почки и кишечник, меньше — через волосы и с молоком. Для человека период полувыведения таллия  $t_{1/2} = 30$  сут, объем распределения  $Vd = 1–5$  л/кг. При поступлении в малых дозах таллий накапливается в организме, т.е. является кумулятивным ядом. Различия в фоновых уров-



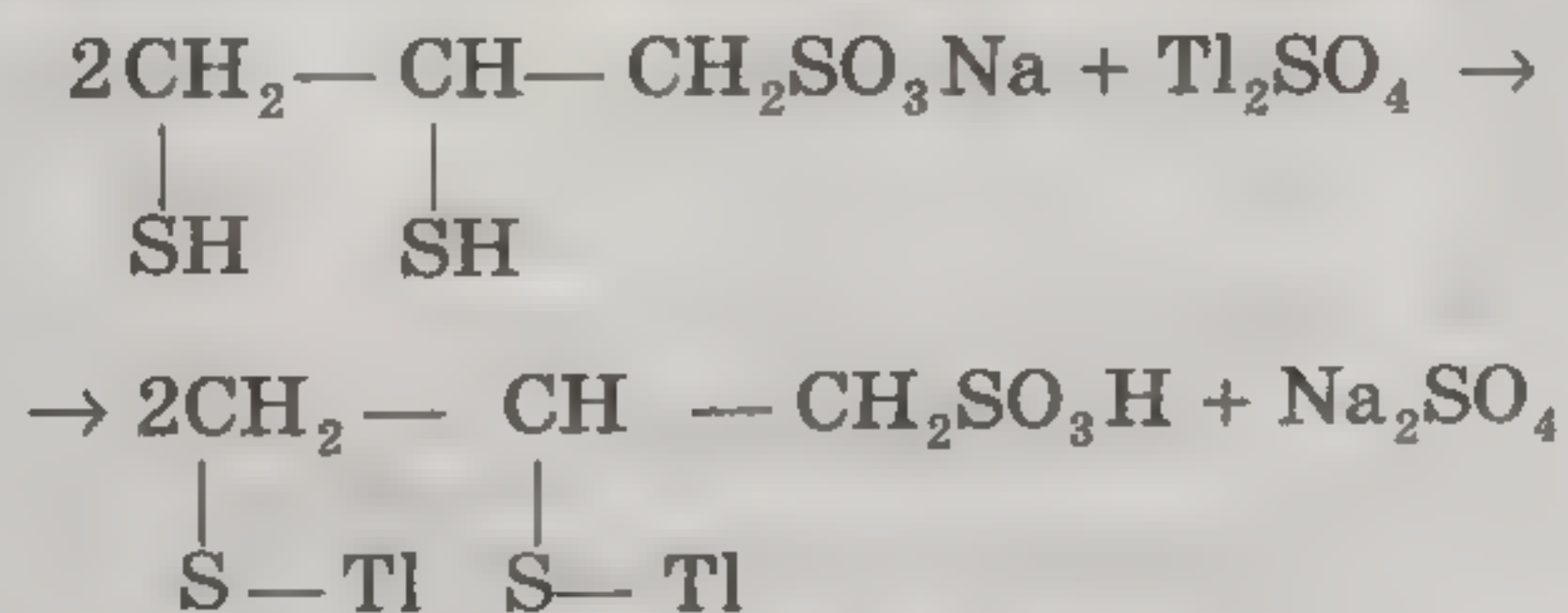


нях содержания таллия в биожидкостях и тканях организма отражают экологическое состояние среды проживания человека.

В зависимости от дозы и пути поступления соединений таллия в организм симптомы отравления у человека появляются через 12–24 ч (острое отравление). По данным клиницистов, до момента развития алопеции отравление таллием не диагностируется.

Малорастворимая соль железа (III) гексацианоферрата (II)  $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ , известная химикам как берлинская лазурь (Berline Blue, или Prussian Blue), образует стабильные высокодисперсные водные суспензии, которые назначают для лечения при отравлении радиоактивным и нерадиоактивным таллием. Механизмы действия берлинской лазури объясняют образованием растворимой двойной соли  $\text{TlFeFe}(\text{CN})_6$ . Возможно также образование малорастворимого  $\text{Tl}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  ( $K_{\text{пр}} = 5 \cdot 10^{-10}$ ), побочных эффектов антидота не было обнаружено. Имеются данные, что для человека не представляет опасности суточная доза берлинской лазури 10 г.

Эффективность применения в качестве антидота унитиола связана со снижением содержания свободных ионов таллия и выведением токсиканта из организма в виде унитиолата:



Для диагностики таллиевого отравления информативным диагностическим объектом является моча. При посмертных судебно-медицинских исследованиях целесообразно определение таллия в ногтях и волосах, концентрирующих этот элемент вследствие присутствия в них тиоловых соединений. Кроме того, объектами исследования являются такие органы-мишени, как почки и печень (табл. 23.1).

Определение таллия в минерализатах (окисление кислотами) проводят атомно-абсорбционным методом с пламенной атомизацией при длине волны 276,8 нм (табл. 23.2). Содержание таллия в пробах определяют с помощью калибровочных кривых, для построения которых использовали стандартные рас-





творы, содержащие известные количества таллия. При каждом анализе проводят «холостой» опыт, включающий все этапы пробоподготовки без добавления биопробы.

Химический анализ проб биологических субстратов, поступивших на анализ в период с 1998 по 2006 г., показал, что использование крови в качестве маркера отравления таллием не целесообразно в связи с особенностями токсикокинетики галлия (быстрое распределение по органам и тканям), а также из-за позднего поступления этих проб в аналитическую лабораторию (иногда через несколько недель от момента отравления). Предварительное скрининговое определение таллия в крови (эмиссионный анализ) не дало положительного ответа ни в одном случае ( $N = 49$ ). Анализ мочи, напротив, оказался весьма информативным. Получение серии результатов позволило ранжировать отравления по степени тяжести (рис. 23.4).

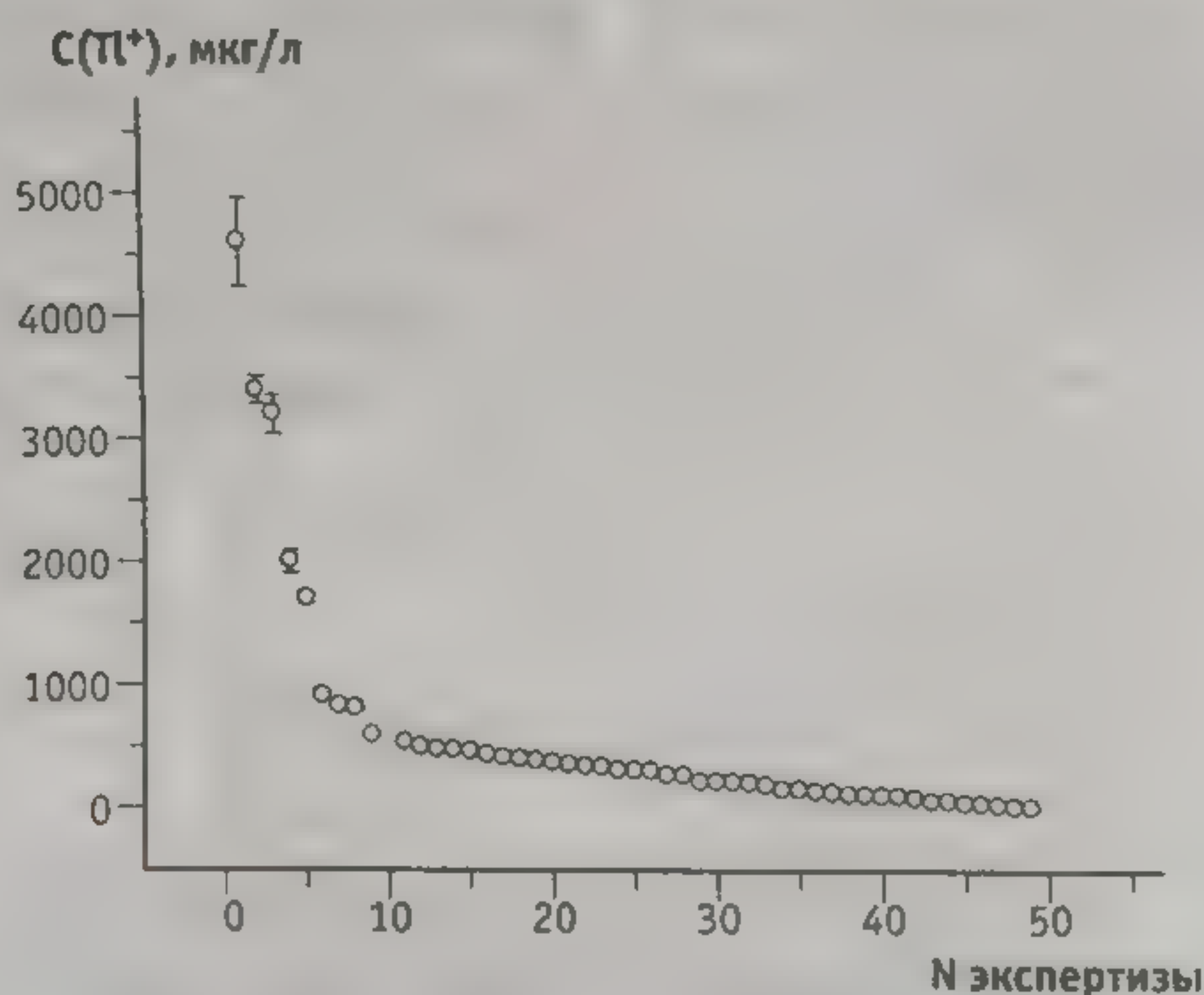


Рис. 23.4. Ранжирование по убыли содержания таллия в моче при отравлении человека соединениями таллия

В 11 случаях содержание таллия в суточной моче превышало 500 мкг/л, а в пяти из этих проб наблюдалось тысячекратное превышение нормы. Только одна проба соответствовала интервалу нормального содержания таллия в моче и составляла  $(1,00 \pm 0,07)$  мкг/л. Корреляция результатов химического анализа с описаниями патологических эффектов в эпикризах отравившихся и с литературными данными по до-

Содержание

биологи- ческий материал	Интервал содержания таллия в норм
1	2
моча	0,05– 1,5 мкг/л





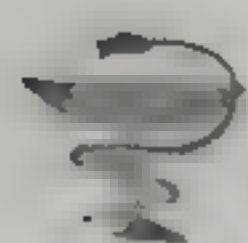
зависимым эффектам позволила охарактеризовать практически все исследованные случаи как тяжелые, соответствующие острым отравлениям. Только одна проба укладывалась в интервал нормальных содержаний таллия в моче. Обращает на себя внимание, что особенно тяжелые отравления, соответствующие содержанию таллия в моче (400–5000) мкг/л, составляли половину всех отравлений. Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют об актуальности проблемы отравления соединениями таллия и открывают перспективы совершенствования методик его определения в биоматериалах.

Таблица 23.1

**Содержание таллия в жидкостях и тканях человека  
в норме и при интоксикации**

Биологический материал	Интервал содержания таллия в норме	Характеристики отравления	Содержание таллия при отравлении (приведенная концентрация)
1	2	3	4
моча	0,05–1,5 мкг/л	Моча, жители Германии	0,3–7,9 мкг/л
		Моча людей, проживающих вблизи цементного завода (Германия)	80 мкг/л
		Суточная моча 51-летней женщины после отравления соединением таллия	5000 мкг/л
		Суточная моча 80-летней женщины после отравления соединением таллия	21 600 мкг/л
		Моча мужчины после установления факта попытки суицида	16 мкмоль/л (3270 мкг/л)
		Моча того же мужчины через 18 сут	1 мкмоль/л (204,4 мкг/л)





Продолжение табл. 23.1

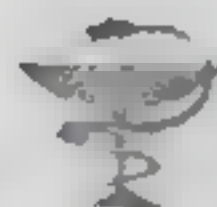
1	2	3	4
Кровь	0,5–3,0 мкг/л	Кровь 51-летней женщины после отравления соединением таллия	50 мкг/л
		Кровь 80-летней женщины после отравления соединением таллия	422 мкг/л
		Кровь мужчины после установления факта попытки суицида	4 мкмоль/л (817,6 мкг/л)
		Кровь того же мужчины через 18 сут	1 мкмоль/л (204,4 мкг/л)
Волосы	< 20 нг/г	—	—
Ногти	< 5 нг/г	—	—
Печень	0,5–3 нг/г	—	—
Почки	1–4 нг/г	—	—
Мозг	< 1 нг/г	—	—

Таблица 23.2

Характеристика методов анализа биологических материалов и объектов окружающей среды при определении таллия

№ п/п	Метод анализа	Анализируемый объект	Предел обнаружения / интервал определяемых концентраций
1	2	3	4
1	Спектрофотометрия (с метиловым фиолетовым)	Моча	0,15 мкг/л
2	Спектрофотометрия (с родамином-В)	Аэрозоли промышленных зон	0,25 г/см <sup>3</sup>
3	Нейтронно-активационный анализ	Угольная зола в виде аэрозоля	5,7–0,7 ppm (мкг/г)





Продолжение табл. 23.2

1	2	3	4
4	Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой; $\lambda = 190,864$ нм	Растворы, суспензии. Воды питьевые, поверхностные; домашние и промышленные отходы	40 мкг/л
5	Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной аргонной плазмой; $\lambda = 190,9$ нм, помехи минимизированы подбором длины волны	Кровь и другие ткани	10–10 000 мкг/ 100 г крови, 2–2000 мкг/г ткани
6	Атомно-абсорбционная спектрометрия; $\lambda = 278,6$ нм. Помехи: присутствие нерастворимых соединений таллия	Воздух	0,034–0,15 мг/м <sup>3</sup>
7	Атомно-абсорбционная спектрометрия	Воздух — вещества, накопленные на фильтрах (кислотное разложение)	5–20 мкг/мл, 210–840 мкг/м <sup>3</sup>
8	Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной аргонной плазмой; $\lambda = 190,9$ нм. Помехи: спектральные, минимизированные выбором длины волны и коррекцией базовой линии	Воздух	2,5–1000 мкг/фильтр
9	Рентгенофлуоресцентный анализ (недеструктивный метод для определения следовых количеств таллия)	Пища, семена овощей, почвенные экстракты, сточные воды, донные отложения, покрытия полов	0,6–9 ppm (мкг/г)





### Приложение 23.3. Методы минерализации биоматериалов при подготовке проб для анализа при определении металлических ядов

#### Методики пробоподготовки биопробы при определении ртути

В зависимости от вида биологического материала применяют следующие способы его разрушения.

**Моча.** К 10 мл суточной мочи, помещенной в кварцевую колбу, добавить 2 мл концентрированной  $H_2SO_4$  и ~ 0,4 г  $KMnO_4$  и оставить на ночь. На следующий день избыток  $KMnO_4$  удалить, добавив в каждую колбу небольшое количество щавелевой кислоты. После обесцвечивания раствора содержимое колбы количественно перенести в мерную колбу на 50 мл и довести раствор до метки дистиллированной  $H_2O$ .

**Кровь.** В коническую колбу вместимостью 50 мл поместить 5 г крови, прилить 0,2 мл этанола, 5 мл концентрированной  $HNO_3$ , прикрыть колбу воронкой и по каплям добавить 5 мл концентрированной  $H_2SO_4$ , не допуская выделения оксидов азота. После прекращения бурной реакции с образованием оксидов азота нагревать жидкость на кипящей водяной бане в течение 10 мин. Затем в колбу добавить равный объем кипящей воды и горячий раствор отфильтровать через плотный фильтр (предварительно смоченный дистиллированной водой) в мерную колбу на 50 мл, промывая фильтр дважды горячей дистиллированной водой. После охлаждения содержимое колбы довести до метки дистиллированной водой.

*Примечание:* параллельно проводят «холостой» опыт (без биоматериала).

#### Методики пробоподготовки биопробы при определении таллия

В зависимости от вида биологического материала применяют следующие способы его разрушения.

**Моча.** В кварцевую чашку к 25 мл мочи добавить по 1 мл концентрированной  $H_2SO_4$  и  $HNO_3$ . Содержимое чашки упарить при нагревании на плитке с асбестовым покрытием до полного обезвоживания и сжечь остаток в муфельной печи при температуре 400 °С до образования сухого остатка, не содержащего частиц углерода. Если остаток после озоления имеет серый цвет, то





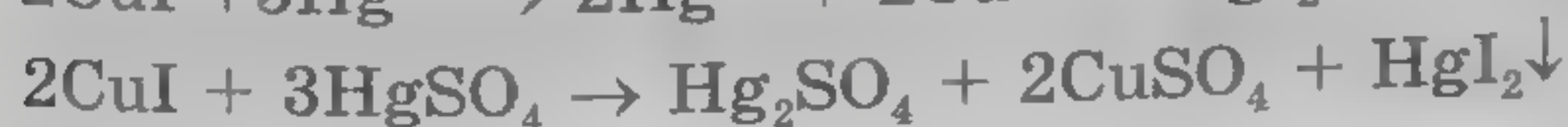
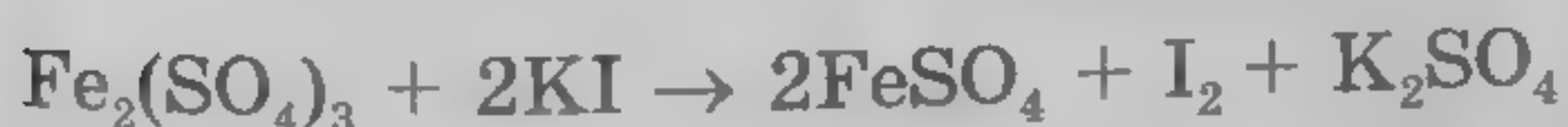
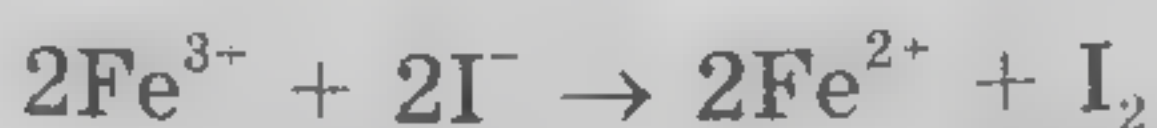
охлажденную пробу смочить небольшим количеством концентрированной азотной кислоты, подсушить на электроплитке и снова озолить в муфельной печи. Эту процедуру повторить до получения белого сухого остатка. Полученный сухой остаток растворить сначала в 2 мл концентрированной азотной кислоты, упарить до влажных солей и вновь растворить в 2 мл азотной кислоты (1:1) при слабом нагревании и довести объем дистиллированной водой до 5 мл.

**Кровь.** В кварцевую чашку к 5 г крови добавить по 2 мл концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и  $\text{HNO}_3$ . Содержимое чашки упарить при нагревании на плитке с асбестовым покрытием до получения сухой массы и сжечь в муфельной печи при температуре  $400^\circ\text{C}$  до образования сухого остатка, не содержащего частиц угля. Если остаток после озоления имеет серый цвет, то охлажденную пробу смочить небольшим количеством концентрированной  $\text{HNO}_3$ , подсушить на плитке и снова озолить в муфельной печи. Эту процедуру повторить до получения белого сухого остатка крови. Затем сухой остаток крови обработать 2 мл 1 моль/л соляной кислоты и 0,5 мл концентрированной азотной кислоты и выпарить на водяной бане при  $70-80^\circ\text{C}$ . При необходимости операцию повторить дважды.

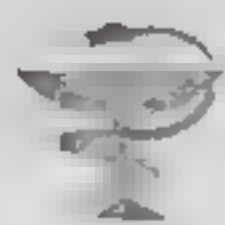
Полученный сухой остаток растворить сначала в 2 мл азотной кислоты (1:1) при слабом нагревании и довести объем дистиллированной водой до 5 мл.

#### Приложение 23.4. Химические реакции к лабораторной работе

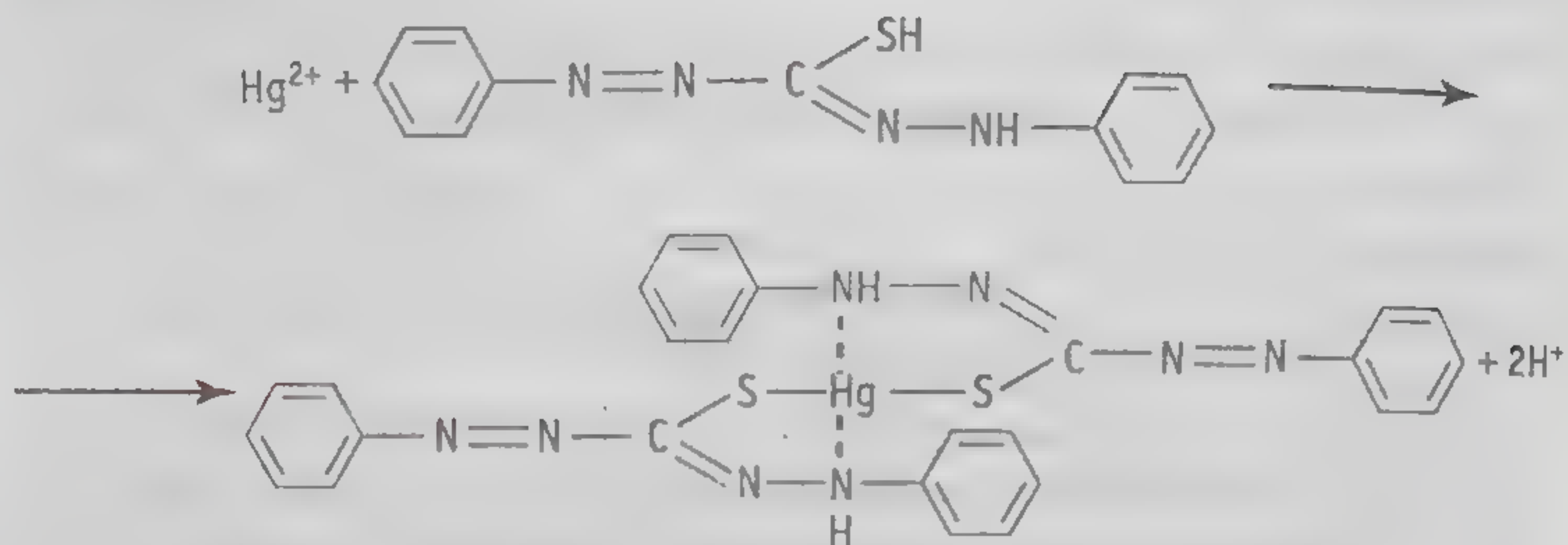
##### 1.2.1.



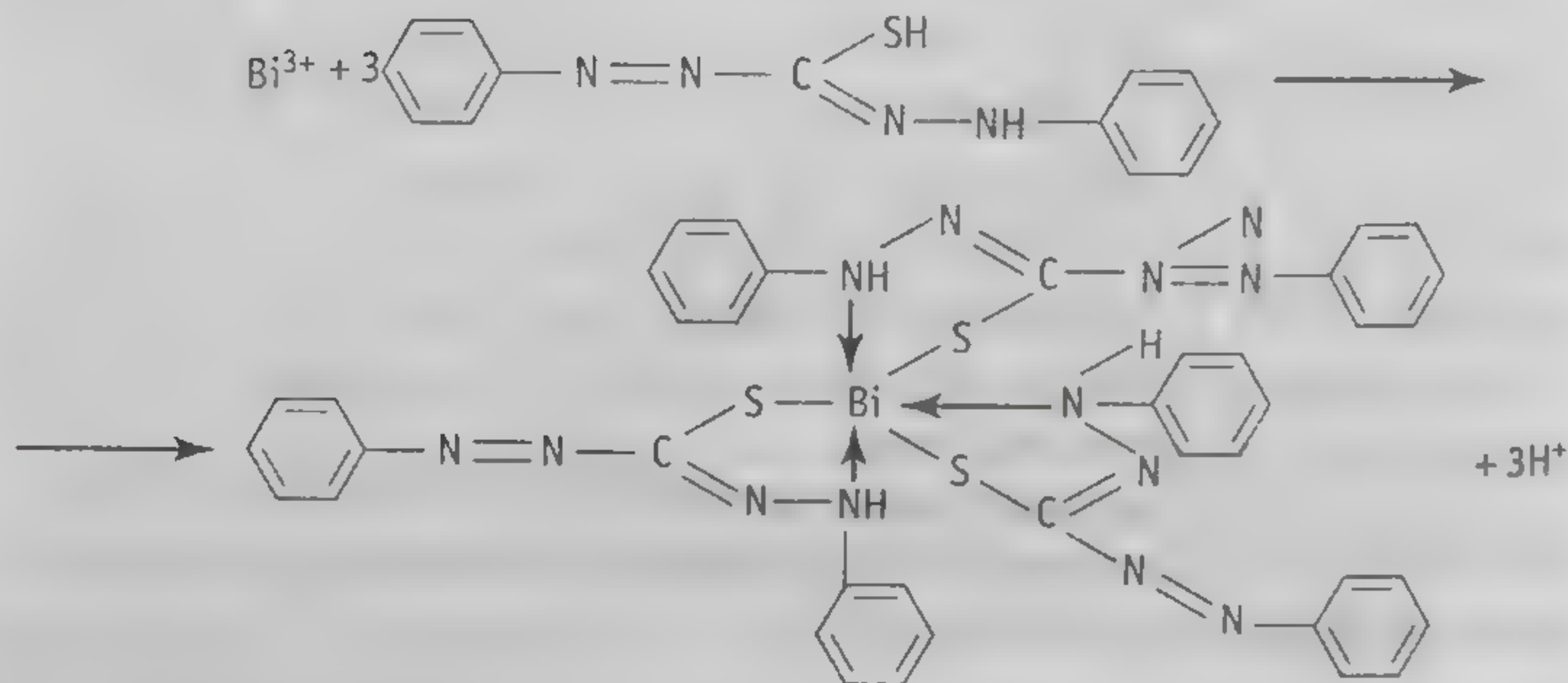




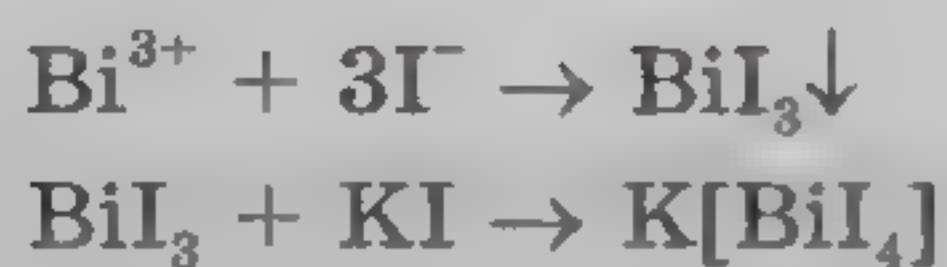
1.2.2.



1.3.1



1.3.2



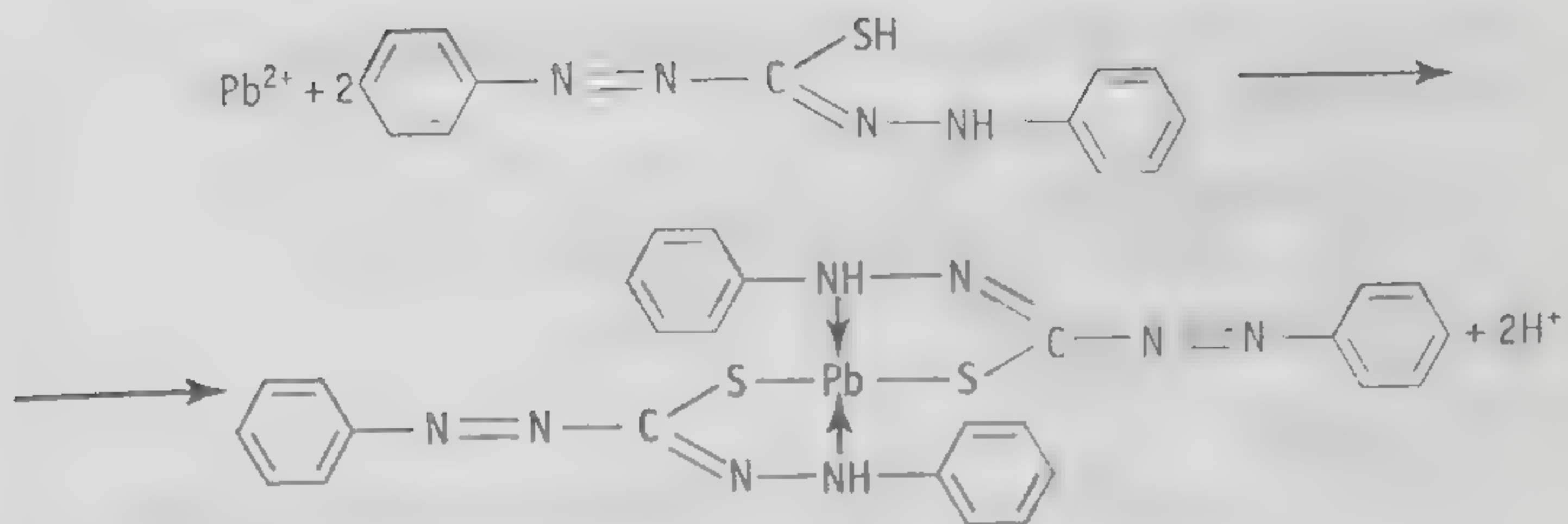
1.3.3



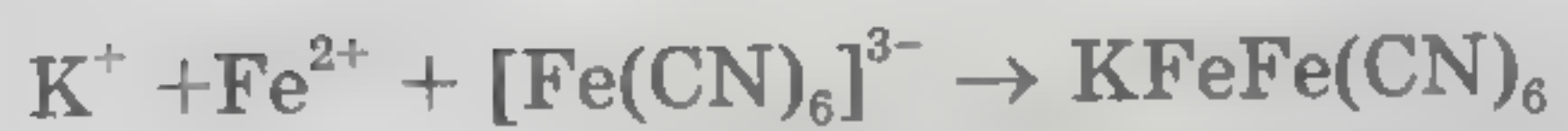




1.4



1.5

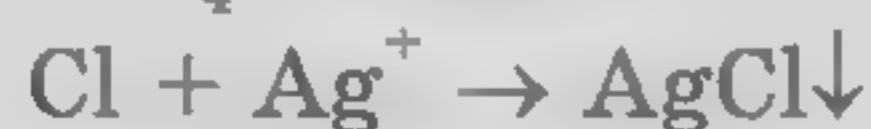
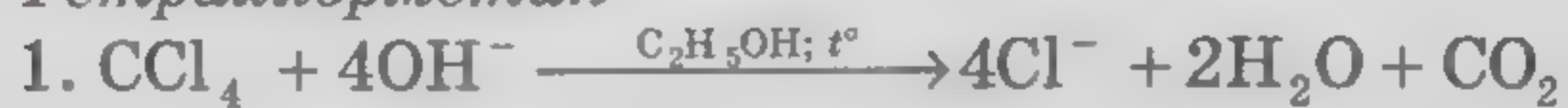




## V Приложение к занятию 24

### Реакции идентификации галогенопроизводных углеводов

#### Тетрахлорметан



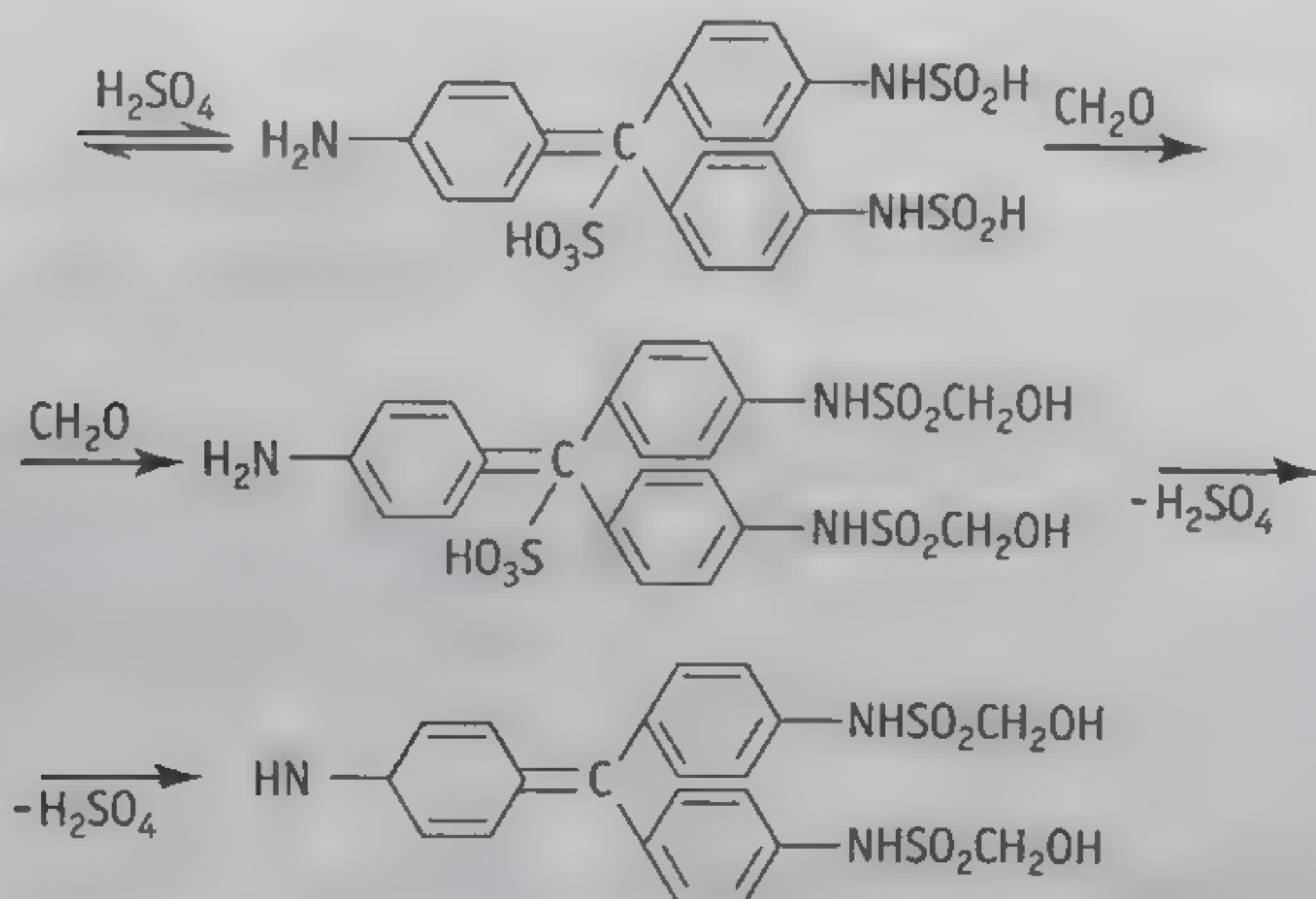
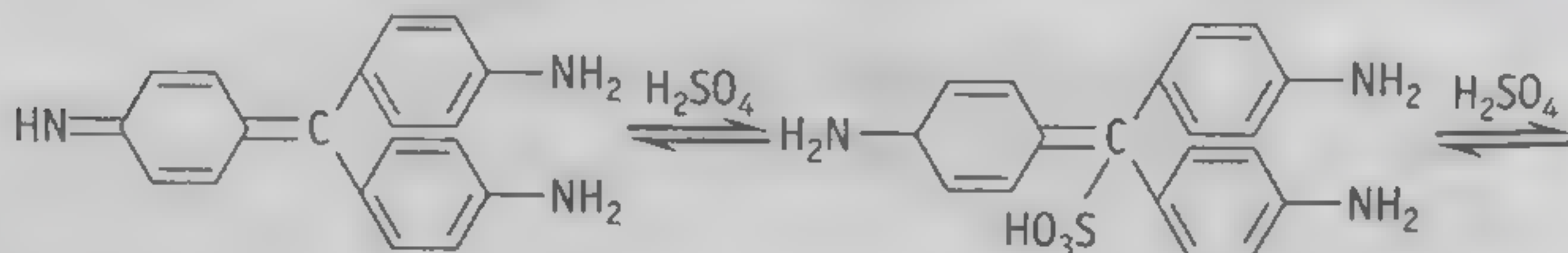
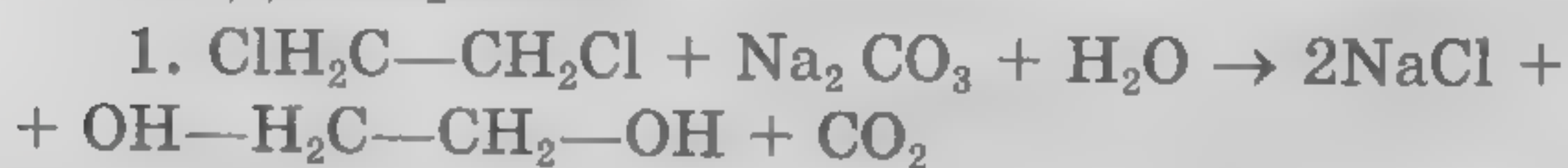
#### 2. NaOH



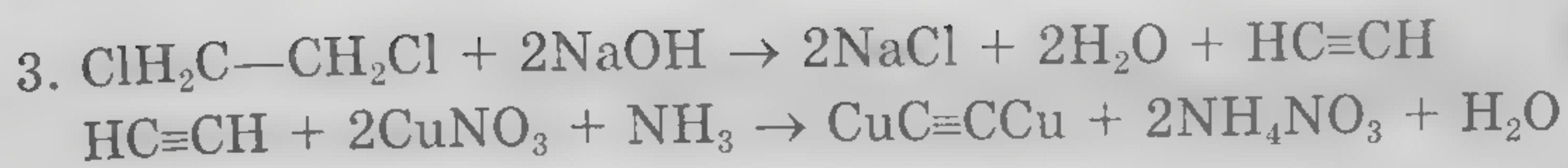
#### Трихлорметан



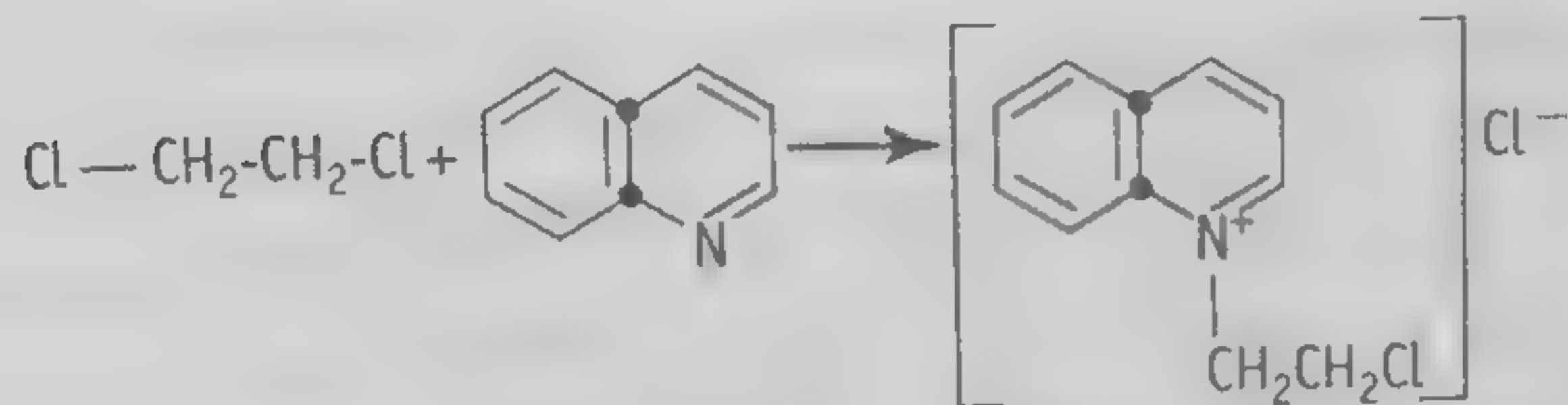
#### 1,2-Дихлорэтан



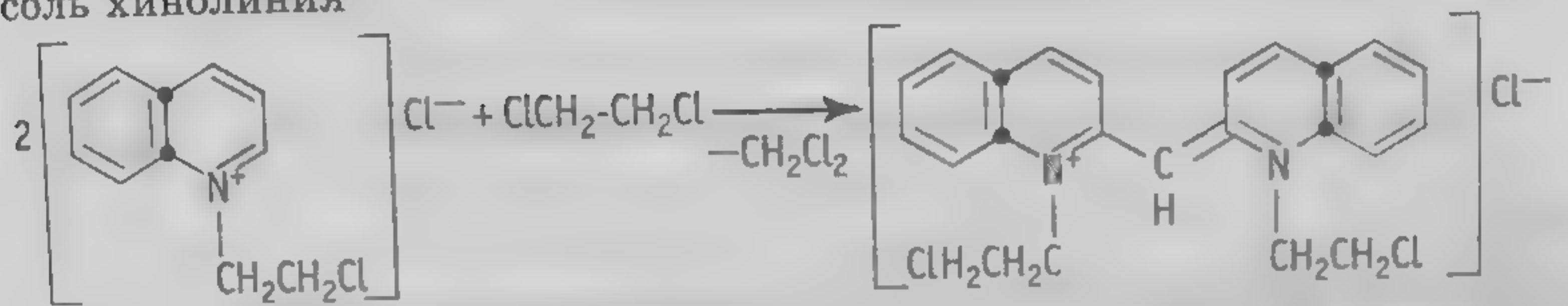




4.



СОЛЬ ХИНОЛИНИЯ



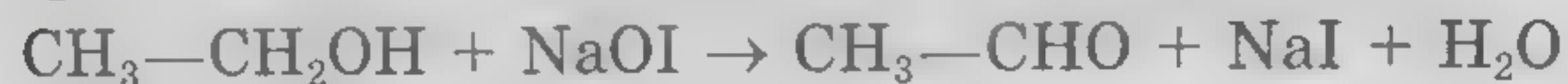
цианиновый краситель



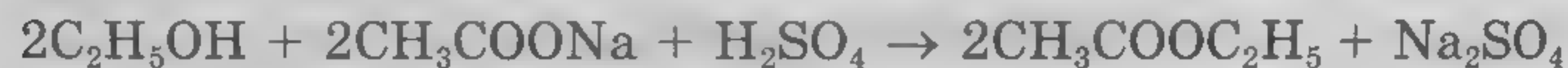
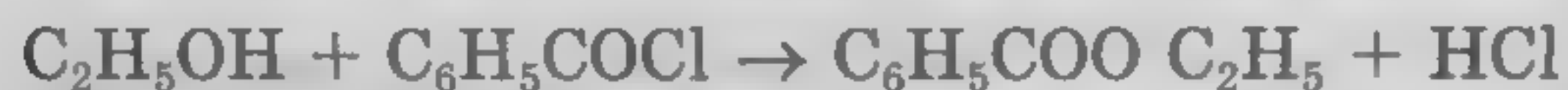
## V Приложения к занятию 25

### Приложение 25.1. Реакции идентификации этанола

Образование йодоформа:



Реакции с карбоновыми кислотами или их солями:



### Приложение 25.2. Реакции идентификации этанола

*Определение на основе реакции с перманганатом калия.* В кислой среде метанол восстанавливает перманганат-ионы, обуславливающие фиолетовую окраску раствора, до ионов марганца ( $\text{Mn}^{2+}$ ), раствор которых бесцветен:



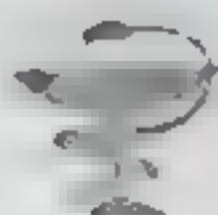
В процессе определения к 2 мл исследуемого раствора (дистиллята) прибавляют 0,2 мл реактива и нагревают реакционный раствор при  $50^\circ\text{C}$  (горячая вода из-под крана или водяная баня) в течение 10 мин. В присутствии метанола наблюдается ослабление фиолетовой окраски раствора или ее исчезновение.

*Приготовление реактива.* Смешивают 100 мл 3%-ого раствора перманганата калия с 15 мл 87%-ного р-ра фосфорной кислоты.

*Определение на основе реакции с хромотроповой кислотой после предварительного окисления с использованием микродиффузионного варианта.* (Определение метанола в соответствии с данным вариантом может проводиться в биологических объектах без предварительного изолирования отравляющего агента.)

В кислой среде метанол окисляется перманганат-ионами до формальдегида, который способен образовывать окрашенный продукт сине-фиолетового (красно-фиолетового) цвета с хромотроповой кислотой. Данную реакцию на метанол целесообразно



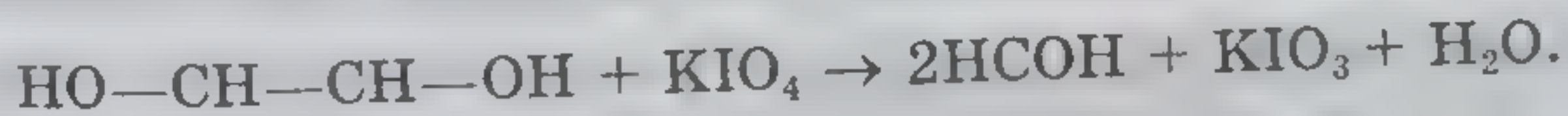


проводить в том случае, если в анализируемом растворе (дистилляте) или биожидкости отсутствует формальдегид.

В процессе определения в наружную камеру прибора для микродиффузии вносят 1 мл исследуемого раствора или биожидкости (анализируемая проба) и 1 мл насыщенного р-ра карбоната калия, а во внутреннюю камеру помещают 3 мл 10%-ного р-ра серной кислоты. Плотнo закрывают прибор крышкой и оставляют на 2 часа при комнатной температуре. По истечении указанного времени к 1 мл раствора, взятого из внутренней камеры прибора, прибавляют 0,2 мл 5%-ного р-ра перманганата калия. После 10-минутной экспозиции реакционной смеси ее последовательно обрабатывают 0,2 мл гидросульфита натрия (для восстановления избытка окислителя), 0,2 мл свежеприготовленного 0,5%-ного р-ра хромотроповой кислоты, охлаждают на льду или в холодильнике, прибавляют 4 мл концентрированной серной кислоты и нагревают при 98–100 °С на водяной бане в течение 15 мин. Реакционный раствор охлаждают до комнатной температуры. В случае присутствия в анализируемой пробе метанола раствор приобретает фиолетовое окрашивание.

### Приложение 25.3. Реакция идентификации и количественного определения гликолей

*Определение на основе реакции с фуксинсернистой кислотой после предварительного окисления.* В основу определения положена способность этиленгликоля окисляться в определенных условиях до формальдегида, который с фуксинсернистой кислотой образует окрашенный продукт сине-фиолетового (красно-фиолетового) цвета. В качестве окислителей могут быть применены перйодаты, процесс взаимодействия с которыми протекает по схеме:



В процессе определения 0,2–0,4 мл исследуемого раствора (дистиллята) обрабатывают 0,3 мл 5%-ного р-ра перйодата калия в 5%-ном р-ре серной кислоты и выдерживают реакционную смесь в течение 5 мин. По истечении указанного времени к реакционной смеси прибавляют 0,2–0,3 мл насыщенного раствора сернистой кислоты и 0,2 мл фуксинсернистой кислоты. В присутствии этиленгликоля наблюдается появления сине-фиолетовой или красно-фиолетовой окраски.



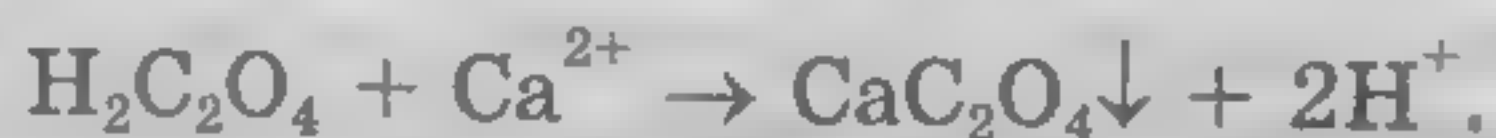
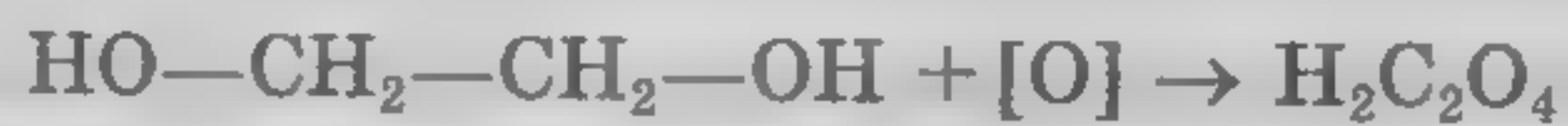


Определение на основе реакции с ионами меди (II) в щелочной среде (не применяется при исследовании дистиллята). В основе определения лежат следующие процессы:



В процессе определения к 2–3 мл исследуемой жидкости добавляют 1 мл 10%-ного р-ра гидроксида натрия и 0,2 мл 10%-ного р-ра сульфата меди (II). В присутствии этиленгликоля развивается голубое окрашивание.

Определение на основе образования нерастворимых оксалатов после предварительного окисления. Окисление этиленгликоля до щавелевой кислоты можно осуществить азотной кислотой. Образующаяся щавелевая кислота с ионами кальция образует белый кристаллический осадок оксалата:



В процессе определения 2–3 мл исследуемого раствора (дистиллята) вносят в выпарительную чашку, прибавляют 2–3 мл азотной кислоты ( $\rho = 1,4 \text{ г/см}^3$ ) и выпаривают на водяной бане до получения сухого остатка. К остатку прибавляют 2–3 мл азотной кислоты такой же концентрации и нагревают реакционный раствор до получения сухого остатка. Процесс выпаривания по указанной схеме осуществляют еще 1–2 раза. Остаток растворяют в 2–3 мл воды, проверяют раствор на отсутствие азотной кислоты, нейтрализуют 10%-ным р-ром аммиака и обрабатывают 1–2 мл 5%-ного р-ра хлорида кальция. В присутствии оксалат-ионов наблюдается выпадение белого кристаллического осадка (кристаллы оксалата кальция).

### Количественное определение

#### Фотометрия

1. Определение на основе реакции с фуксинсернистой кислотой после предварительного окисления

К 5 мл исследуемого раствора (дистиллята) прибавляют 1 мл 10%-ного р-ра серной кислоты и 0,2 мл 5%-ного р-ра перйодата калия в 5%-ной серной кислоте и выдерживают реакционный раствор в течение получаса. По истечении указанного времени к реакционному раствору прибавляют по каплям насыщенный рас-



твор сульфита натрия, восстанавливая, таким образом, избыток йодной кислоты до полного связывания выделившегося вначале йода, после чего прибавляют 1 мл фуксинсернистой кислоты. Через 30 мин измеряют оптическую плотность образующегося окрашенного раствора при длине волны 570 нм на фоне раствора, полученного в контрольном опыте. По величине оптической плотности определяют количественное содержание этиленгликоля, используя градуировочный график или его уравнение. График линейен в интервале концентраций 0,8-3,2 мкг в 1 мл фотометрируемого раствора.

## 2. Определение на основе реакции образования гидроксаматов

При обработке этиленгликоля ацилирующим агентом он переходит в соответствующий сложный эфир, который способен реагировать с гидроксиламином в щелочной среде с образованием гидроксамовой кислоты, образующей с солями тяжелых металлов окрашенные продукты.

В процессе определения к 0,5 мл исследуемого раствора (дистиллята) прибавляют 9,5 мл ацилирующего реактива. Через 15 мин к 1 мл полученного раствора в мерной колбе вместимостью 50 мл прибавляют 0,5 мл 20%-ного водного р-ра пиридина, 3 мл 14 моль/л р-ра перхлората гидроксилamina и 10 мл 2,5 моль/л р-ра гидроксида натрия. Реакционный раствор выдерживают 20 мин, после чего обрабатывают 22-25 мл смеси р-ра перхлората железа с ацетоном, через 5 мин этой же смесью доводят общий объем содержимого колбы до метки. Оптическую плотность полученного окрашенного раствора измеряют при длине волны 524 нм на фоне раствора, полученного в контрольном опыте. По величине оптической плотности определяют количественное содержание анализируемого вещества, используя градуировочный график или его уравнение.

Ацилирующий реактив. Его получают путем смешивания в условиях охлаждения 1 мл 72%-ной хлорной кислоты с 20 мл пиридина и разбавления уксусным ангидридом до 50 мл.

Раствор перхлората железа (III), смешанный с ацетоном. В мерной колбе вместимостью 500 мл растворяют 50 г перхлората железа (III) в 400 мл абсолютного этанола, прибавляют 40 мл 72%-ной хлорной кислоты и доводят содержимое колбы до метки этанолом. Вносят 100 мл этого раствора в мерную колбу вместимостью 2 л, туда же добавляют 1,7 л абсолютного этанола, содержимое колбы охлаждают, в колбу вводят небольшо-





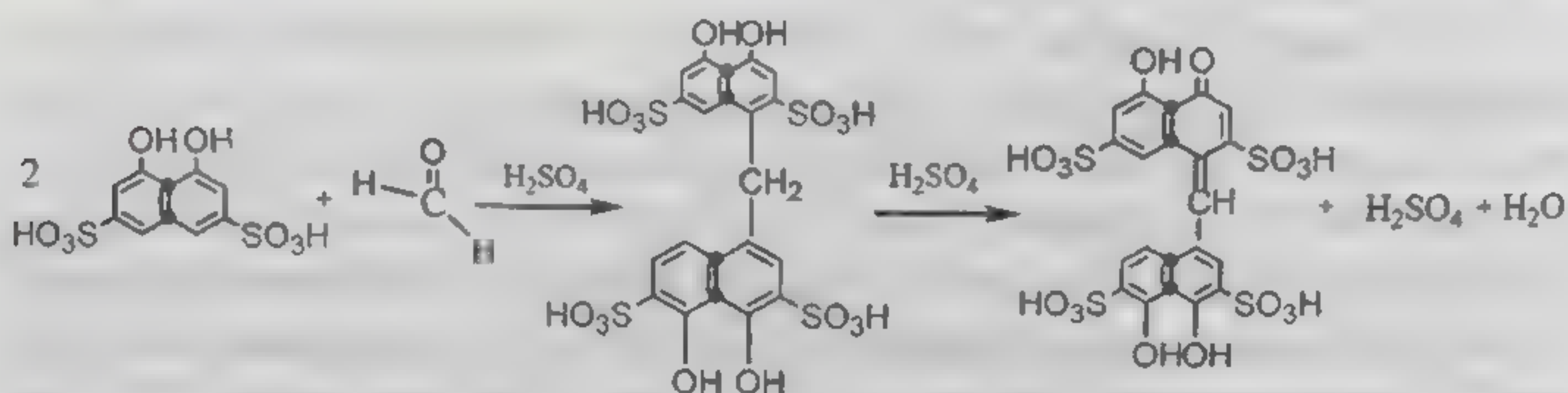
ми порциями 140 мл 72%-ной хлорной кислоты и после охлаждения образующегося раствора его объем доводят до метки этанолом, 35 мл полученного раствора перхлората железа смешивают с 2,5 мл ацетона.

**Метод ГЖХ.** Этиленгликоль может быть определен методом газожидкостной хроматографии после предварительного окисления до формальдегида перйодатом калия в сернокислой среде.

**Титриметрический метод.** После предварительного окисления в серно-кислой среде перйодатом калия этиленгликоль может быть определен по образующемуся формальдегиду йодометрическим методом.

#### Приложение 25.4. Реакции идентификации формальдегида

1. Взаимодействие с хромотроповой кислотой протекает по схеме:



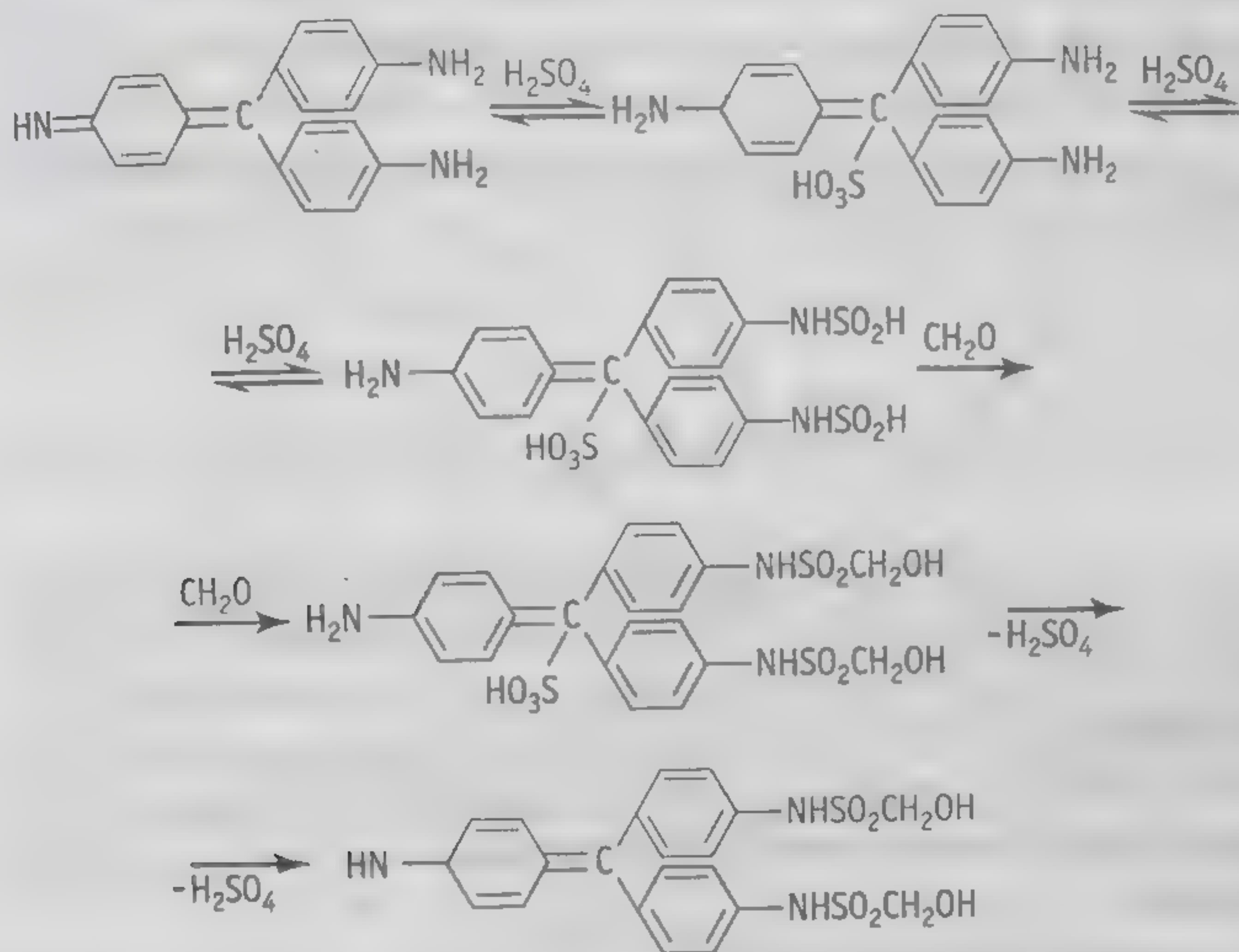
2. Микродиффузионный вариант реакции с хромотроповой кислотой.

3 мл исследуемого водного раствора (дистиллята) или биожидкости (кровь, моча) или 1,0 г гомогената биологической ткани вносят в наружную камеру прибора для микродиффузии и добавляют туда же 0,15–0,2 мл 10%-ого раствора серной кислоты. Во внутреннюю камеру вносят 3,3 мл 0,15 моль/л раствора сульфита натрия. Прибор закрывают крышкой и оставляют при комнатной температуре на 4 часа. По истечении указанного времени из внутренней камеры отбирают 1 мл жидкости, разбавляют 9 мл воды, охлаждают и обрабатывают смесь 0,2 мл свежеприготовленного 0,5%-ного раствора хромотроповой кислоты и 4 мл концентрированной серной кислоты в условиях нагревания при 98–100 °С на водяной бане в течение 15 минут. Реакционный раствор охлаждают до комнатной температуры. В случае присутствия формальдегида раствор приобретает фиолетовое окрашивание.





3. *Определение на основе реакции с фуксинсернистой кислотой.* В основе получения реактива и его взаимодействия с формальдегидом лежат следующие процессы:



К 1 мл исследуемого раствора (дистиллята), содержащего вещество, изолированное из биологического материала, прибавляют 0,1 мл концентрированной серной кислоты, встряхивают полученную смесь, охлаждают до комнатной температуры холодной водой и обрабатывают 1 мл раствора фуксинсернистой кислоты. В присутствии формальдегида появляется сине-фиолетовое или красно-фиолетовое окрашивание.

**Приготовление реактива. Способ А.** 0,1 г фуксина растворяют в 50 мл воды в условиях нагревания. После охлаждения раствора в него вносят 2,5 г сульфита натрия, 1,5 мл хлороводородной кислоты ( $\rho = 1,12 \text{ г/см}^3$ ) и доводят до 100 мл водой. Через 2—3 часа полученный раствор приобретает желтовато-розовый цвет. Раствор обесцвечивают путем встряхивания с активированным углем и фильтруют.

**Способ Б.** 4,50 г фуксина растворяют в 1,5 л воды, в раствор вводят 9,6 мл сульфита натрия и, спустя 5—10 мин, 40 мл 6 моль/л раствора серной кислоты. Через сутки реакционную

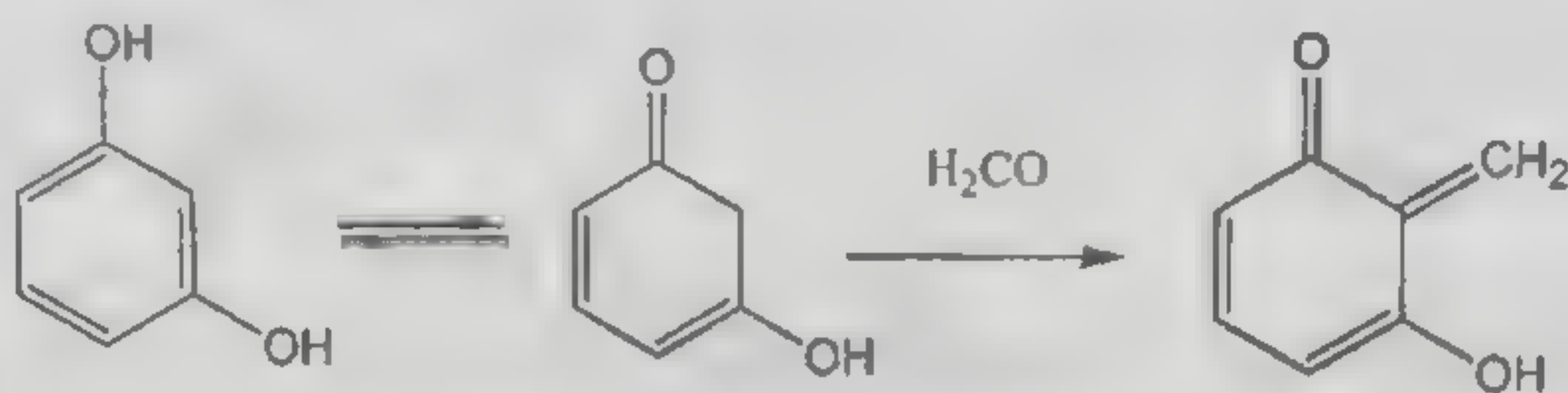




смесь фильтруют на воронке Бюхнера, фильтрат взбалтывают с 3 граммами активированного угля и вновь фильтруют.

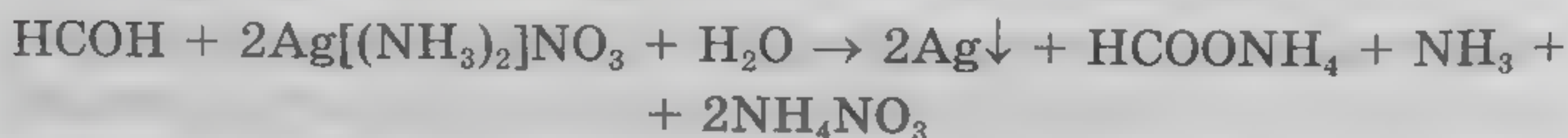
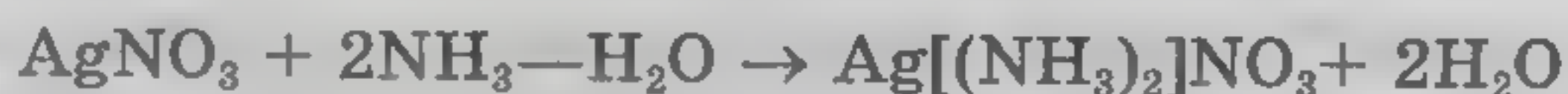
Отбирают 10 мл обесцвеченного раствора, разбавляют до 30 мл водой и титруют 0,1 н. раствором йода (индикатор — крахмал). Содержание диоксида серы в 100 мл раствора должно составлять 2,8–4,8 ммоль.

4. *Определение по реакции с резорцином.* В основе взаимодействия лежит процесс:



К 1 мл исследуемого раствора (дистиллята), содержащего вещество, изолированное из биологического материала, прибавляют 1 мл 1%-ного р-ра резорцина в 10%-ном растворе гидроксида натрия и нагревают реакционную смесь на водяной бане при 98–100 °С в течение 5 мин. В присутствии формальдегида реакционный раствор приобретает розовое или малиновое окрашивание.

5. *Реакция окисления нитратом серебра.* В основе реакции лежит следующий процесс:

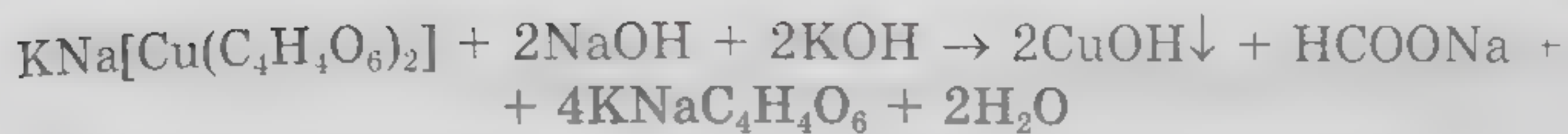


В стеклянную пробирку вносят 1 мл 1%-ного р-ра нитрата серебра, прибавляют 0,5–0,6 мл 10%-ного р-ра аммиака и 1 мл исследуемого р-ра (дистиллята), содержащего вещество, изолированное из биологического материала. Реакционный раствор нагревают при 50–60 °С на водяной бане. В присутствии формальдегида наблюдается появление серебристого налета на стенках пробирки (серебряное зеркало) или выпадает серый осадок.

6. *В основе определения лежит следующий процесс:*



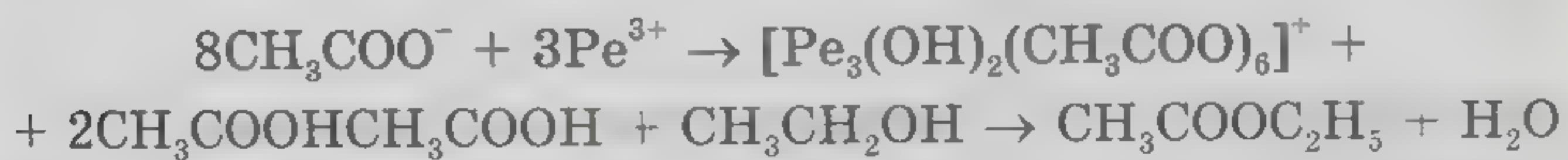




К 2 мл исследуемого раствора (дистиллята), прибавляют 4 мл реактива Фелинга и нагревают до кипения. В присутствии формальдегида выпадает кирпично-красный осадок.

5 мл реактива Фелинга разбавляют 5 мл воды и нагревают до кипения. Раствор должен оставаться прозрачным и не выделять даже следов осадка.

*Приложение 25.5. Реакции идентификации уксусной кислоты*





## V Приложения к занятию 26

### Приложение 26.1

Циановодород (цианид водорода)  $\text{HCN}$ ,  $M_r$  49,01

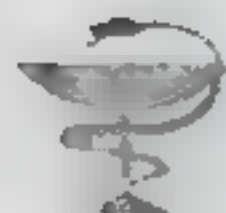
Газ или бесцветная жидкость с температурой кипения  $26,7^\circ\text{C}$  и температурой замерзания  $-14^\circ\text{C}$ . Водный раствор  $\text{HCN}$  называется циановодородной, или синильной, кислотой, которая относится к очень слабым кислотам (константа диссоциации равна  $7,2 \cdot 10^{-10}$ ). Уже под влиянием диоксида углерода она выделяется из солей щелочных металлов в свободном состоянии. Синильная кислота в любых соотношениях смешивается с водой, легко воспламеняется и горит голубоватым пламенем. Она легко переходит в муравьиную кислоту. Соли синильной кислоты — цианиды — представляют собой твердые кристаллические вещества, легко подвергающиеся гидролизу.

Циановодород  $\text{HCN}$  в свободном состоянии в природе не встречается. В растениях содержится в виде гликозидов (амигдалин, пруназин, дуррин и др.). Образуется при горении целлулоида, содержится в табачном дыме.

Циановодородная кислота применяется для извлечения благородных металлов из руд. Используется способность цианидов калия и натрия давать легкорастворимые комплексные соли с соединениями золота и серебра, из которых металлы восстанавливают цинком. Синильная кислота и ее соли находят применение в ювелирном деле, текстильной промышленности для окраски тканей, фотографии; в синтезе ряда органических лекарственных средств, пластмасс, химических волокон.

В качестве флотационных материалов цианиды применяют в цинковом и свинцовом производствах, их используют для обработки поверхности стали при травлении металлических деталей. Синильная кислота является побочным продуктом при получении акрилонитрила из пропилена и аммиака. Имеются данные об использовании цианидов для борьбы с вредителями сельского хозяйства. Синильная кислота и хлорциан стоят на вооружении ряда стран в качестве нетабельных (запасных) отравляющих веществ.





### Формы цианидов

1. Свободная циановодородная кислота.
2. Простые цианиды (соли со щелочными и щелочно-земельными металлами).
3. Цианидные комплексные соединения различной степени устойчивости (комплексные цианиды цинка, никеля, меди, кобальта, железа).

4. Органически связанные цианиды. Данная группа соединений включает как природные, так и синтетические вещества. Примером синтетического вещества, содержащего органически связанную цианогруппу, может служить бромбензилцианид, обладающий слезоточивым действием. К природным цианосодержащим соединениям относятся, в частности, гликозиды. Наиболее известным гликозидом, содержащим органически связанную цианогруппу, является амигдалин, присутствующий в ядрах семян ряда растений семейства *Rosaceae* (горького миндаля, персика, абрикоса, сливы, вишни, лавровишни, бобовника и ряда других). Выделение циановодородной кислоты из амигдалина может происходить в кислой среде, а в присутствии фермента эмульсина — также в нейтральной.

Из других цианосодержащих гликозидов можно отметить фавосолунатин, присутствующий в индийских бобах (*Phaseolus lunatus*), линамарин (гликозид семян льна), пруназин (гликозид пенсильванской вишни), дуррин (присутствует в просе) и ряд других.

Синильная кислота относится к отравляющим веществам общедовитого действия, так же как и ее производное — хлорциан. Цианиды содержатся в норме в организме человека в количестве около 6,7 мкг%, в плазме крови 4–5 мкг/л; в клетках крови — 26 мкг/л. В организме курящих содержание цианидов повышено и составляет примерно 17 мкг%.

Наиболее известными путями поступления циановодородной кислоты в организм, приводящими к отравлениям, являются пероральный и ингаляционный.

Отравления происходят при контакте с цианидсодержащими веществами в производственных условиях, вследствие аварий, техногенных катастроф, применения химического оружия, при загрязнении объектов окружающей среды и продуктов питания отходами химических производств, выбросами в атмосферу и сточными водами предприятий. Отравления могут происходить вследствие ошибочного приема цианидов в виде





растворов синильной кислоты, ее простых солей, неорганических комплексов, а также в виде органически связанных форм. Случайные отравления органически связанными формами цианидов могут происходить, в частности, вследствие незнания или нарушения правил работы со слезоточивыми цианидсодержащими органическими веществами, употребления ядер семян (косточек) горького миндаля и ряда других растений семейства *Rosaceae* или компотов из плодов данных растений, хранившихся длительное время. Возможно умышленное применение цианидов (как правило, в виде синильной кислоты и ее простых солей) в целях убийства или при суицидальных попытках.

$DL_{min}$  синильной кислоты 0,05–0,1 г (200–300 мг), токсическая концентрация в плазме крови 260 мкг/л. Для KCN летальной дозой для человека является 0,15–0,25 г.

Смертельная доза амигдалина — 1 г (содержится в 40 г горького миндаля или в 100 г ядер косточек абрикосов).

Угнетает внутриклеточные железосодержащие дыхательные ферменты — цитохромоксидазу (блок гемоглобина крови), вызывая кислородное голодание тканей (тканевая гипоксия), кровь ярко-алая.

Токсическое действие лакриматоров. Токсикологическую проблему составляет применение слезоточивых веществ — лакриматоров (от греч. лакрима — слеза) при различных операциях, разгонах демонстраций, митингов, захватах и т.д. Наиболее известны такие лакриматоры, как хлорциан, хлорацетофенон, бромбензилцианид, хлорпикрин. Основное действие — слезоточивое, но также общеядовитое и удушающее. При попадании в глаза наблюдаются резь в глазах, спазм век, при большой концентрации возможна потеря зрения. Но симптомы проходят при прекращении действия лакриматоров.

Облегчает состояние промывание глаз раствором борной кислоты или альбуцида, горла — 2%-ным раствором гидрокарбоната натрия. В тяжелых случаях используют промедол, морфин, для глаз — 1%-ный раствор дионина. Необходимо также предпринять меры для удаления капель лакриматоров с одежды и тела, чтобы отравление не повторилось.

Различают следующие формы отравления цианидами:

— легкая — характеризуется субъективными ощущениями: запах горького миндаля (5–10% людей запах не ощущают),



металлический привкус во рту, стеснение в груди, слабость. Малые количества синильной кислоты быстро обезвреживаются в организме путем реакции с глюкозой и серосодержащими соединениями, симптомы исчезают;

— *средняя* (при более высоких концентрациях) — характерны выраженные явления тканевого кислородного голодания, головная боль, шум в ушах, тошнота, онемение слизистой оболочки рта, одышка, боли в области сердца и симптомы легкой степени отравления. С прекращением поступления яда основные симптомы прекращаются, но боль и слабость могут еще наблюдаться в течение 3 сут;

— *тяжелая* — характеризуется быстрым наступлением всех симптомов. Кожные покровы приобретают розовую окраску, зрачки расширяются, возможны судороги. Смерть может наступить от паралича дыхательного центра;

— *молниеносная* — проявляется потерей сознания, судорожной стадией в течение минуты и остановкой дыхания. При вскрытии отмечают светло-красный цвет трупных пятен, розовую окраску кожных покровов. Кровь жидкая, ярко-алого цвета, чувствуется запах горького миндаля из полостей.

Антидотная терапия предполагает быстрое применение метгемоглобинообразующих препаратов (нитрит натрия, амилнитрит), необходимых для связывания синильной кислоты с образующимся метгемоглобином и возобновления тканевого дыхания. Кроме того, используют антидоты, связывающие цианогруппу: глюкозу, тиосульфат натрия.

Биотрансформация протекает по нескольким механизмам. Одно из возможных направлений — превращение цианидов в менее токсичные роданиды при участии фермента роданидазы. Другой механизм — гидролиз цианид-ионов до муравьиной кислоты с последующим превращением в формат аммония. Описана способность цианидов связываться с гемоглобином крови. Они также могут взаимодействовать с альдегидными группами углеводов.

При посмертном ХТА в качестве объекта исследования используют желудок с содержимым, печень, почки, мозг, легкое, селезенку. При ингаляционном отравлении для анализа используют кровь.

При изолировании перегонку с водяным паром ведут с одновременным пропусканием в перегонную колбу азота через





микроредуктор из баллона со сжатым азотом. Дистиллят в объеме 3–5 мл собирают в приемник, содержащий 2 мл гидроксида натрия.

### Идентификация

**Метод ГЖХ.** Синильная кислота может быть идентифицирована газохроматографическим методом при использовании колонок длиной 2,7 м, заполненных хромосорбом W/DMXC (диметилхлорсилан) с нанесением на него 15% -ного 1,2,3-трис-2-цианоэтоксипропана, при температуре колонки 37 °С и применении пламенно-ионизационного детектора. Подвижная фаза — азот. Синильную кислоту идентифицируют по характерному значению времени (объема) удерживания, совпадающему с таковым вещества-стандарта.

### Количественное определение

**Метод ГЖХ.** Процесс определения проводится в соответствии с методикой, описанной выше для идентификации синильной кислоты. Количественное содержание анализируемого вещества определяют по высоте или площади хроматографического пика, используя градуировочный график или предварительно рассчитанное уравнение градуировочного графика.

### Фотометрия

1. Определение на основе взаимодействия с пиридин-*п*-фенилендиаминовым реактивом

Вносят 1 мл дистиллята, содержащего исследуемое вещество, в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 3 мл воды, нейтрализуют, прибавляют 0,2 мл насыщенного раствора брома, через 5 мин прибавляют 0,4 мл 2% -ного р-ра мышьяковистой кислоты для обесцвечивания раствора, затем 8 мл пиридин-*п*-фенилендиаминового реактива и доводят до метки водой. Через 30–50 мин оптическую плотность окрашенного раствора измеряют при длине волны 508 нм.

**Приготовление реактива.** В первой колбе к 150 мл пиридина прибавляют 100 мл воды и 25 мл 36% -ной хлороводородной кислоты (раствор № 1). Во второй колбе 1,7 г дихлорида фенилендиамина растворяют в 500 мл 0,5 моль/л р-ра хлороводородной кислоты (раствор № 2). Реактив получают, смешивая растворы № 1 и 2 в объемном отношении 3:1.





## 2. Определение на основе взаимодействия с пиридинпиразолоновым реактивом

К 1 мл дистиллята с содержанием цианидов в интервале приблизительно 0,01–1,0 мг/л прибавляют 10%-ный р-р уксусной кислоты до pH 6,5–8,0, переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, туда же вносят 0,2 мл 1%-ного р-ра хлорамина Т, перемешивают содержимое колбы и выдерживают 1–2 мин. По истечении указанного времени объем раствора в колбе доводят до метки водой и через 20 мин измеряют оптическую плотность окрашенного в голубой цвет раствора при длине волны 620 нм на фоне раствора, полученного в контрольном опыте. По величине оптической плотности определяют количественное содержание цианидов, используя предварительно рассчитанное уравнение градуировочного графика.

Приготовление пиридинпиразолонового реактива. В первой колбе растворяют 0,25 г 1-фенил-3-метил-5-пиразолона в 50 мл воды при температуре: 60 °С и охлаждают (раствор № 1). Во второй колбе 0,01 г биспиразолона растворяют в 10 мл пиридина (раствор № 2). Растворы № 1 и 2 фильтруют последовательно через один и тот же фильтр и перемешивают.

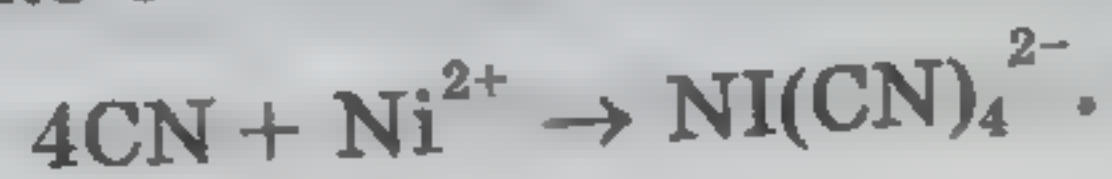
## 3. Определение на основе взаимодействия с димедоновым реактивом

Помещают 1–2 мл раствора исследуемого вещества в 0,1–0,2 моль/л р-ре гидроксида натрия в мерную колбу вместимостью 50 мл, туда же вносят 1 мл 1%-ного р-ра хлорамина, 3 мл 3%-ного р-ра димедона (5,5-диметилциклогександиона-3) в 3%-ном пиридине, 10 мл фосфатного буфера (pH 7,6) и доводят объем жидкости в колбе до метки. Через 45 мин измеряют оптическую плотность окрашенного раствора при длине волны 585 нм на фоне раствора, полученного в контрольном опыте. По величине оптической плотности определяют количественное содержание цианидов, используя уравнение градуировочного графика.

### Титриметрия

#### 1. Титрование солями никеля

В основу количественного определения синильной кислоты или цианидов может быть положена способность цианидов образовывать комплекс с ионами никеля (2+):







Титрование солью никеля проводится в аммиачной среде в присутствии индикатора мурексида. В точке эквивалентности окраска меняется с сине-фиолетовой (собственная окраска индикатора) на оранжево-желтую (окраска комплекса ионов никеля (2+) с мурексидом).

Титрант: 0,1 моль/л или 0,01 моль/л р-р сульфата никеля. Титр устанавливают комплексонометрическим титрованием трилоном Б в присутствии индикатора мурексида, 1 мл 0,1 моль/л р-ра сульфата никеля соответствует 0,104 г цианид-ионов, а 1 мл 0,01 моль/л р-ра титранта — 0,00104 г цианид-ионов.

## 2. Титрование солью серебра

Существует вариант определения синильной кислоты (цианидов) путем титрования нитратом серебра по методу Фольгарда.

**Тетраэтилсвинец (ТЭС, тетраэтилат свинца)  $(C_2H_5)_4Pb$ ,  $M_r = 236,26$**

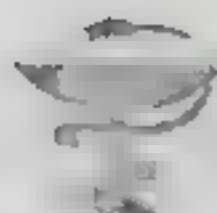
Бесцветная жидкость, пары которой в небольших количествах обладают сладковатым запахом фруктов, а в значительных количествах имеют неприятный раздражающий запах. Температура кипения  $200^\circ C$  (с разложением), плотность  $1,6524 \text{ г/см}^3$ . Так как пары ТЭС значительно тяжелее воздуха, они имеют особенность скапливаться в нижних частях помещений. При температуре  $400^\circ C$  тетраэтилсвинец разлагается со взрывом. Смешивается с органическими растворителями, очень хорошо растворим в жирах, практически не растворяется в воде. Тетраэтилсвинец неустойчив к действию температуры, видимого, ультрафиолетового и рентгеновского излучения. Под действием кислот и галогенов он превращается вначале в триэтил- и диэтилпроизводные, а затем в неорганические соли свинца. Растворенный в алифатических и ароматических углеводородах тетраэтилсвинец постепенно разлагается с образованием оксида свинца (желтые кристаллы) и производных триэтилсвинца (белые кристаллы).

Обладает способностью гореть на воздухе, образуя при этом токсичный желтовато-белый дым.

Один из способов получения тетраэтилсвинца заключается в обработке монохлорэтана сплавом свинца с натрием в присутствии катализаторов (аминов, бутилхлорида и ряда других). Тетраэтилсвинец может быть также получен путем электролиза водно-этанольного раствора этилбромиды и гидроксида натрия

катодная жидк  
свинца и анода  
Тетраэтилс  
содку к бензи  
ганического с  
акрилонитрил  
сульфохлориро  
зам, получен  
качестве добав  
нителя в счет  
пленок из алю  
Отравлени  
ляционного, п  
организм.  
Отравлени  
блюдении пра  
ва, хранения  
технических  
ном и сознате  
жидкостей, со  
эффекта опья  
Обладает  
локровным о  
ральном пост  
человека сост  
в воздухе 0,1  
ляционного  
При отрав  
боль, голов  
появление б  
ство зрения  
В тяжеле  
торых псих  
да, частичн  
Смерть  
Чувств  
этилсвинца  
Попада  
развитию  
случае ко  
признаки





(катодная жидкость) с использованием катода из губчатого свинца и анода из графита.

Тетраэтилсвинец используют как антидетонирующую присадку к бензину. Он является катализатором ряда реакций органического синтеза, полимеризации алкенов, винилхлорида и акрилонитрила, алкилированных углеводов, хлорирования и сульфохлорирования, присоединения тиолов по кратным связям, получения индола из анилина и ацетилен. Применяется в качестве добавки к серосодержащим смазочным маслам, наполнителя в счетчике Гейгера, агента для термического нанесения пленок из алюминия.

Отравления тетраэтилсвинцом являются следствием ингаляционного, перорального и перкутанного поступления яда в организм.

Отравления тетраэтилсвинцом могут происходить при несоблюдении правил техники безопасности в процессе производства, хранения и применения данного вещества и содержащих его технических жидкостей, в аварийных ситуациях, при ошибочном и сознательном приеме внутрь некоторых технических жидкостей, содержащих тетраэтилсвинец, в целях достижения эффекта опьянения.

Обладает значительной токсичностью по отношению к теплокровным организмам.  $DL_{50}$  для крыс 12,7 мг/кг. При пероральном поступлении смертельная доза тетраэтилсвинца для человека составляет 10–15 мл. Концентрация данного вещества в воздухе  $0,1 \text{ мг/м}^3$  может приводить к симптомам острого ингаляционного отравления.

При отравлениях тетраэтилсвинцом возникают головная боль, головокружение, наблюдается тревожный сон, возможно появление бессонницы, могут возникать судороги, расстройство зрения.

В тяжелых случаях отравления отмечается нарушение некоторых психических функций с явлениями галлюцинаций, бреда, частичной или полной потери сознания.

Смерть может наступить в первые 5 сут от отека мозга.

Чувствительность детского организма к воздействию тетраэтилсвинца заметно выше, чем взрослого.

Попадание тетраэтилсвинца в организм может привести к развитию симптомов хронического отравления свинцом. В этом случае кожа приобретает землисто-серый цвет, наблюдаются признаки астении, появляется брадикардия, снижаются темпе-





ратура тела и артериальное давление, увеличивается саливация, повышается потливость. Могут быть выявлены признаки полиневритов, отмечается тремор, ухудшается память. Появляются симптомы поражения почек, могут развиваться психозы.

Характерных патолого-анатомических признаков при вскрытии трупов погибших от отравления тетраэтилсвинцом не обнаруживается. От трупных органов иногда может исходить специфический ароматный запах.

Тетраэтилсвинец в процессе метаболизма может образовывать триэтилсвинец и неорганические соединения свинца.

С момента поступления он может достаточно долго находиться в организме (до трех месяцев), выделяясь при этом с мочой, с калом, через кожу.

В трупах тетраэтилсвинец частично разлагается, образуя соединения, не обладающие летучестью. Некоторая часть его сохраняется в неизменном виде довольно продолжительное время.

В организме отравленных тетраэтилсвинцом отравляющий агент в неизменном виде присутствует в органах центральной нервной системы и в виде неорганических продуктов метаболизма — в печени и почках. Данные органы в основном и являются объектами исследования. В качестве объектов исследования могут рассматриваться также биожидкости, остатки пищевых и технических продуктов, одежда (если поступление яда происходило перкутанно).

Для изолирования тетраэтилсвинца из биологического материала может быть применена перегонка с водяным паром. Дистилляцию осуществляют на приборе, снабженном уловителем паров тетраэтилсвинца.

В приемник и уловитель предварительно вносят по 30 мл насыщенного этанольного раствора йода. После завершения процесса перегонки дистиллят, находящийся в приемнике, и содержимое уловителя объединяют в колбе, после чего ее плотно закрывают и оставляют на полчаса для перевода тетраэтилсвинца в йодид свинца. Содержимое колбы переносят в выпарительную чашку и испаряют растворитель до получения сухого остатка, в котором может присутствовать йодид свинца. Остаток растворяют в 5%-ном растворе азотной кислоты и упаривают раствор до сухого остатка, в котором может находиться нитрат свинца. Остаток растворяют в 5 мл воды («исследуемый раствор»).





В случае если исследования сухого остатка на присутствие ионов свинца дали отрицательный результат, то, предполагая наличие в биоматериале только нелетучих продуктов разложения тетраэтилсвинца, содержимое перегонной колбы упаривают до сухого остатка, а изолирование свинца из остатка проводят методом минерализации.

Выделение тетраэтилсвинца из ряда объектов также осуществляется настаиванием с органическими растворителями. Существует вариант изолирования, при котором объект (при необходимости предварительно измельченный) заливают гидрофобным органическим растворителем (хлороформом) и выдерживают смесь в закрытом виде при комнатной температуре в течение 2 ч. По истечении указанного времени полученное извлечение отделяют от твердого остатка путем фильтрования в коническую колбу, куда заранее помещен 1 г сухого кристаллического йода. Твердый остаток дополнительно промывают 1–2 раза хлороформом. Порции хлороформа, использованные для промывки твердого остатка, фильтруют в ту же колбу, что и первое хлороформное извлечение. Содержимое колбы периодически встряхивают для ускорения процесса растворения йода. Через 15–20 мин после объединения всех фильтратов содержимое колбы помещают в выпарительную чашку и упаривают досуха при температуре 98–100 °С на водяной бане. Остаток обрабатывают серной и азотной кислотами, удаляют оксиды азота и исследуют минерализат на присутствие ионов свинца (II).

### *Количественное определение*

*Спектрофотометрический метод.* Определение основано на реакции с дитизоном.

Процесс определения проводят в соответствии со схемой, описанной выше для идентификации тетраэтилсвинца. Экстракцию продукта реакции из водного слоя с pH 8–9 осуществляют трижды порциями хлороформа по 3 мл каждая. Экстракты объединяют в мерной колбе вместимостью 10 мл и доводят хлороформом до метки. Оптическую плотность полученного раствора измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм на фоне раствора, полученного в контрольном опыте. Количественное содержание тетраэтилсвинца рассчитывают, используя градуировочный график или его уравнение.



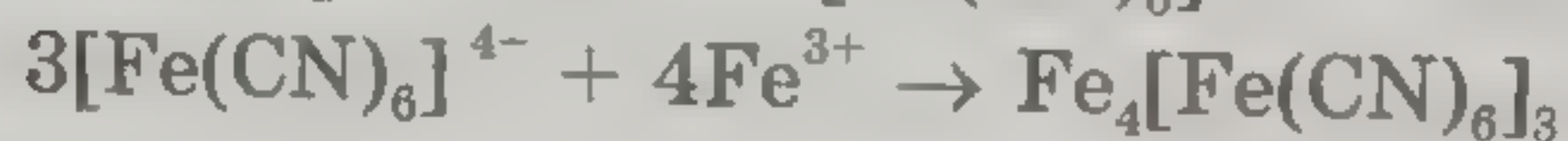
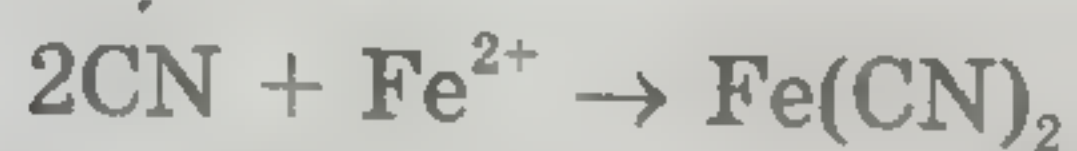


### Титриметрия

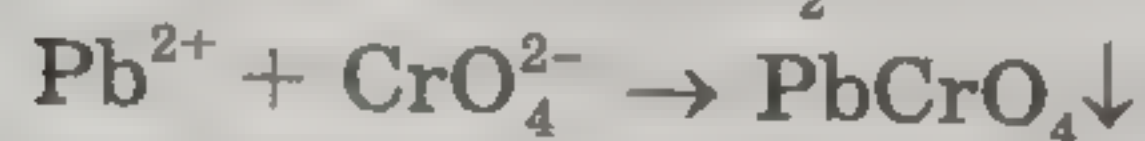
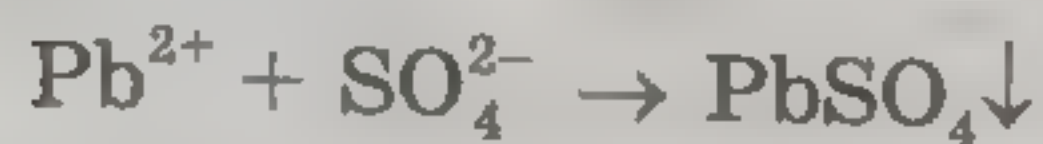
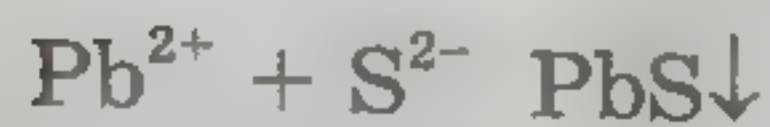
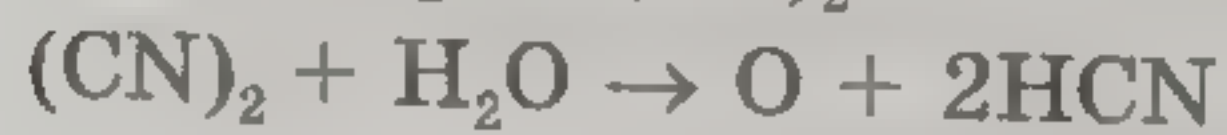
1. Количественное определение гидроксибензола и его метильных производных может быть осуществлено методом йодометрического титрования.

2. Ион свинца (II) тетраэтилсвинец определяют методом комплексонометрии.

### Приложение 26.2. Химические реакции для идентификации цианидов и ионов свинца (тетраэтилсвинца)



красно-белый





Учебное пособие

Плетенёва Татьяна Вадимовна

## ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

### Практикум

Директор редакции И. Федосова  
Ответственный редактор А. Жилинская  
Ведущий редактор О. Шестова  
Редактор Е. Карасева  
Художественный редактор Е. Брынчик  
Технический редактор Л. Зотова  
Компьютерная верстка С. Терентьева  
Корректор Н. Друх

ООО «Издательство «Эксмо»  
127299, Москва, ул. Клары Цеткин, д. 18/5. Тел. 411-68-86, 956-39-21  
Home page: [www.eksmo.ru](http://www.eksmo.ru) E-mail: [info@eksmo.ru](mailto:info@eksmo.ru)

Подписано в печать 29.07.2008. Формат 60×90 1/16. Гарнитура «SchoolBook».  
Печать офсетная. Бумага офсетная. Усл. печ. л. 33,0.  
Тираж 2 500 экз. Заказ № 4802518.

Отпечатано в ОАО «Нижеполиграф»  
603006, Нижний Новгород, Варварская, 32.



**Оптовая торговля книгами «Эксмо»:**

ООО «ТД «Эксмо». 142700, Московская обл., Ленинский р-н, г. Видное,  
Белокаменное ш., д. 1, многоканальный тел. 411-50-74.  
E-mail: [reception@eksmo-sale.ru](mailto:reception@eksmo-sale.ru)

**По вопросам приобретения книг «Эксмо»**

зарубежными оптовыми покупателями обращаться в ООО «Дип покет»  
E-mail: [foreignseller@eksmo-sale.ru](mailto:foreignseller@eksmo-sale.ru)

**International Sales:**

International wholesale customers should contact «Deep Pocket» Pvt. Ltd. for their orders.  
[foreignseller@eksmo-sale.ru](mailto:foreignseller@eksmo-sale.ru)

**По вопросам заказа книг корпоративным клиентам,  
в том числе в специальном оформлении,  
обращаться по тел. 411-68-59 доб. 2115, 2117, 2118.  
E-mail: [vipzakaz@eksmo.ru](mailto:vipzakaz@eksmo.ru)**

**Оптовая торговля бумажно-беловыми**

**и канцелярскими товарами для школы и офиса «Канц-Эксмо»:**

Компания «Канц-Эксмо» 142702, Московская обл., Ленинский р-н, г. Видное-2,  
Белокаменное ш., д. 1, а/я 5. Тел./факс +7 (495) 745-28-87 (многоканальный).  
e-mail: [kanc@eksmo-sale.ru](mailto:kanc@eksmo-sale.ru), сайт: [www.kanc-eksmo.ru](http://www.kanc-eksmo.ru)

**Полный ассортимент книг издательства «Эксмо» для оптовых покупателей:**

**В Санкт-Петербурге:** ООО СЗКО, пр-т Обуховской Обороны, д. 84Е.  
Тел. (812) 365-46-03/04.

**В Нижнем Новгороде:** ООО ТД «Эксмо НН», ул. Маршала Воронова, д. 3.  
Тел. (8312) 72-36-70.

**В Казани:** ООО «НКП Казань», ул. Фрезерная, д. 5. Тел. (843) 570-40-45/46.

**В Ростове-на-Дону:** ООО «РДЦ-Ростов», пр. Стачки, 243А.  
Тел. (863) 220-19-34.

**В Самаре:** ООО «РДЦ-Самара», пр-т Кирова, д. 75/1, литера «Е».  
Тел. (846) 269-66-70.

**В Екатеринбурге:** ООО «РДЦ-Екатеринбург», ул. Прибалтийская, д. 24а.  
Тел. (343) 378-49-45.

**В Киеве:** ООО «РДЦ Эксмо-Украина», ул. Луговая, д. 9.  
Тел./факс: (044) 501-91-19.

**Во Львове:** ТП ООО «Эксмо-Запад», ул. Бузкова, д. 2.  
Тел./факс (032) 245-00-19.

**В Симферополе:** ООО «Эксмо-Крым», ул. Киевская, д. 153.  
Тел./факс (0652) 22-90-03, 54-32-99.

**В Казахстане:** ТОО «РДЦ-Алматы», ул. Домбровского, д. 3а.  
Тел./факс (727) 251-59-90/91. [gm.eksmo\\_almaty@arna.kz](mailto:gm.eksmo_almaty@arna.kz)

**Мелкооптовая торговля книгами «Эксмо» и канцтоварами «Канц-Эксмо»:**  
127254, Москва, ул. Добролюбова, д. 2. Тел. (495) 780-58-34.

**Полный ассортимент продукции издательства «Эксмо»:**

**В Москве в сети магазинов «Новый книжный»:**

Центральный магазин — Москва, Сухаревская пл., 12. Тел. 937-85-81.

Волгоградский пр-т, д. 78, тел. 177-22-11; ул. Братиславская, д. 12. Тел. 346-99-95.

Информация о магазинах «Новый книжный» по тел. 780-58-81.

**В Санкт-Петербурге в сети магазинов «Буквоед»:**  
«Магазин на Невском», д. 13. Тел. (812) 310-22-44.

**По вопросам размещения рекламы в книгах издательства «Эксмо»  
обращаться в рекламный отдел. Тел. 411-68-74.**



ИЗДАТЕЛЬСТВО



ПРЕДЛАГАЕТ

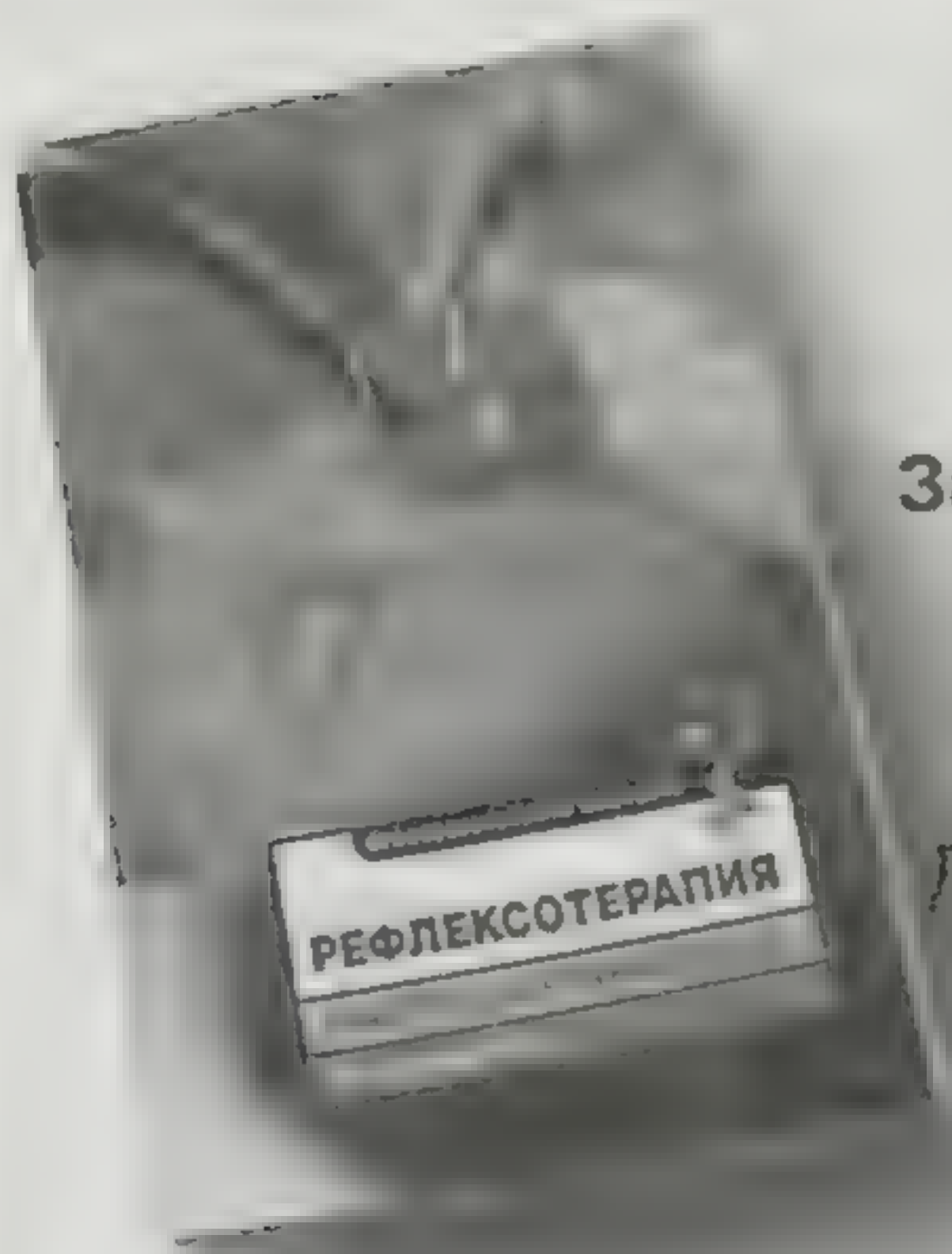
Серия **ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА**



Каждая книга новой серии «Профессиональная медицина» содержит объективную, проверенную, точную информацию по одной из медицинских специальностей.

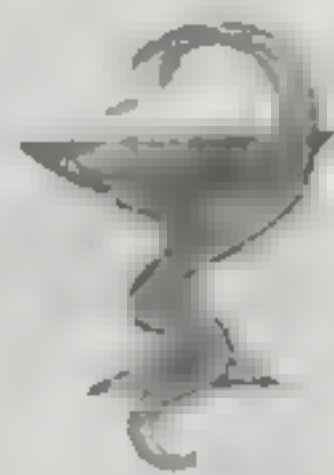
Книги написаны и рекомендованы ведущими российскими учеными, преподавателями – докторами наук, академиками РАН и РАМН. Они дают всеобъемлющее и актуальное освещение выбранной области медицины.

Практический врач, студент медицинского вуза и ссуза, ординатор, аспирант найдут в книгах серии исчерпывающие современные данные по интересующей его проблематике.



Н.М. Калинина, С.А. Кетлинский,  
С.В. Оковитый, С.Н. Шуленин  
**Заболевания иммунной системы**  
**Диагностика и фармакотерапия**

А.Н. Зосимов,  
В.К. Ходзицкая, С.А. Черкасов  
**Детская пульмонология**  
**Принципы терапии**



Д.Н. Стояновский  
**Рефлексотерапия**  
**Практическое руководство**

Заказ книг по телефону: (495) 510-27-27  
Издательство «ЭКСМО»  
(495) 411-66-99

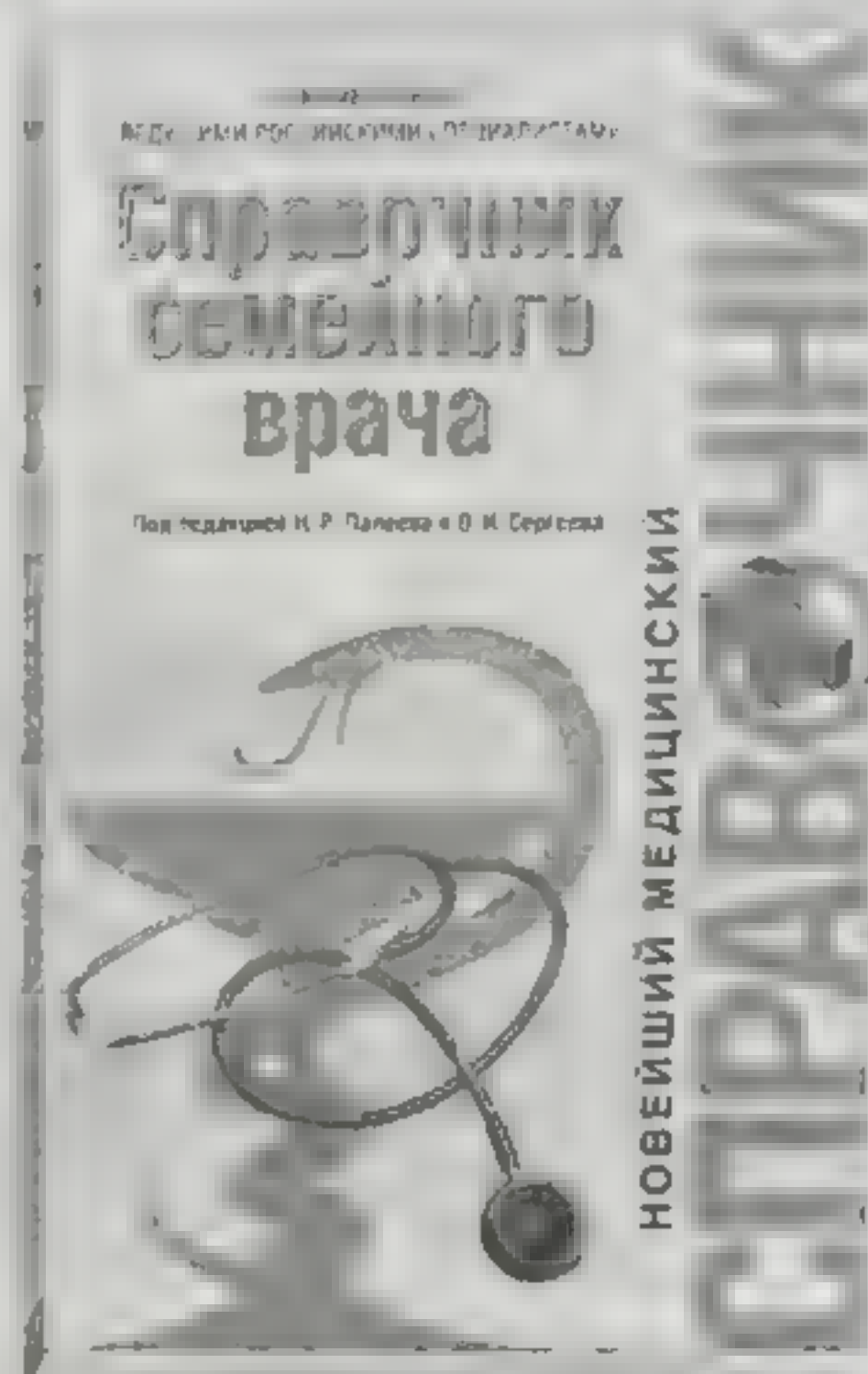
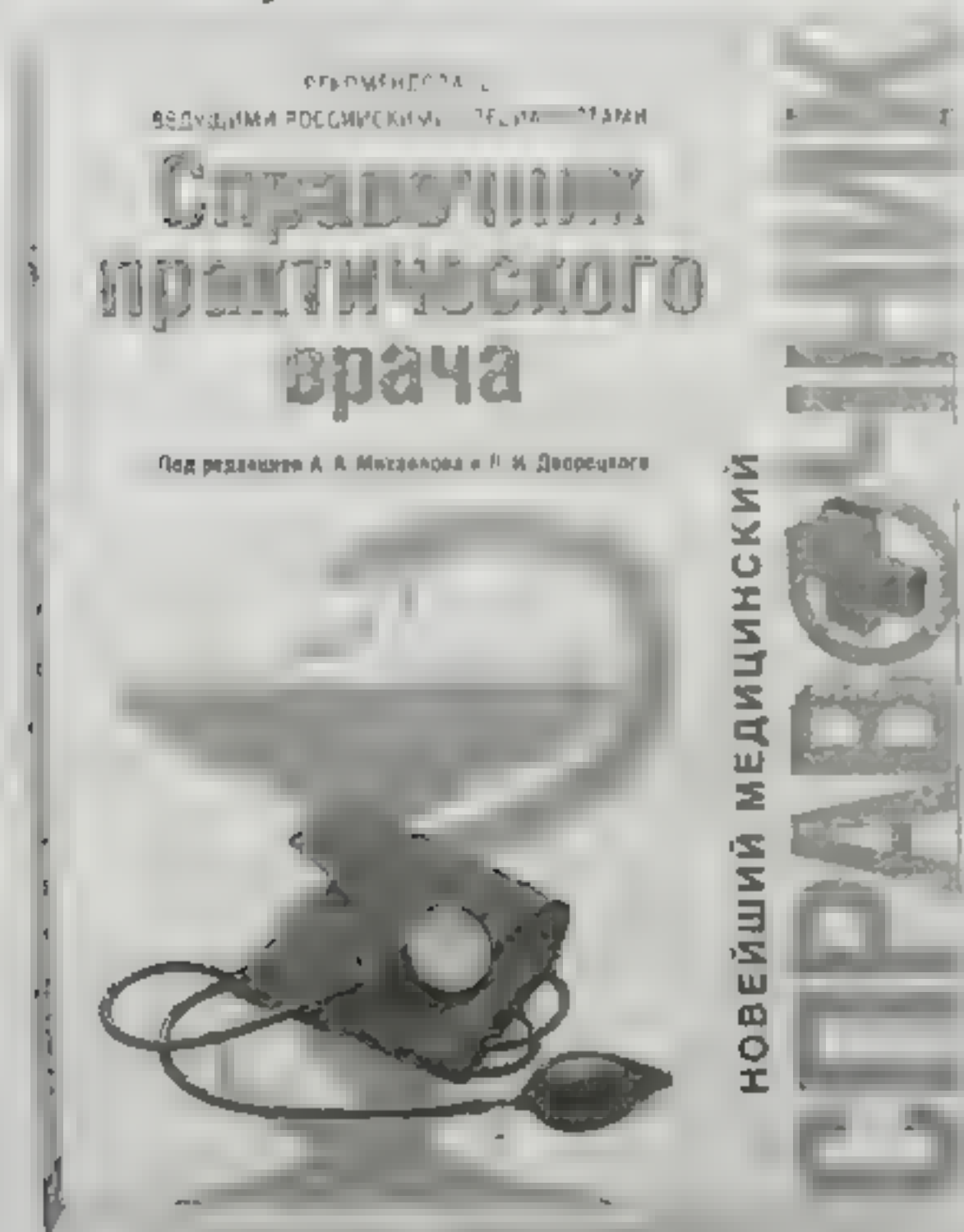
Филиалы-представители «ЭКСМО»  
Санкт-Петербург: 365-46-04  
Самара: 269-66-70 Казань: 70-40-45  
Екатеринбург: 378-49-45 378-49-46  
Ростов-на-Дону: 220-19-34, Н.Новгород: 72-36-70

[www.education.eksmo.ru](http://www.education.eksmo.ru)



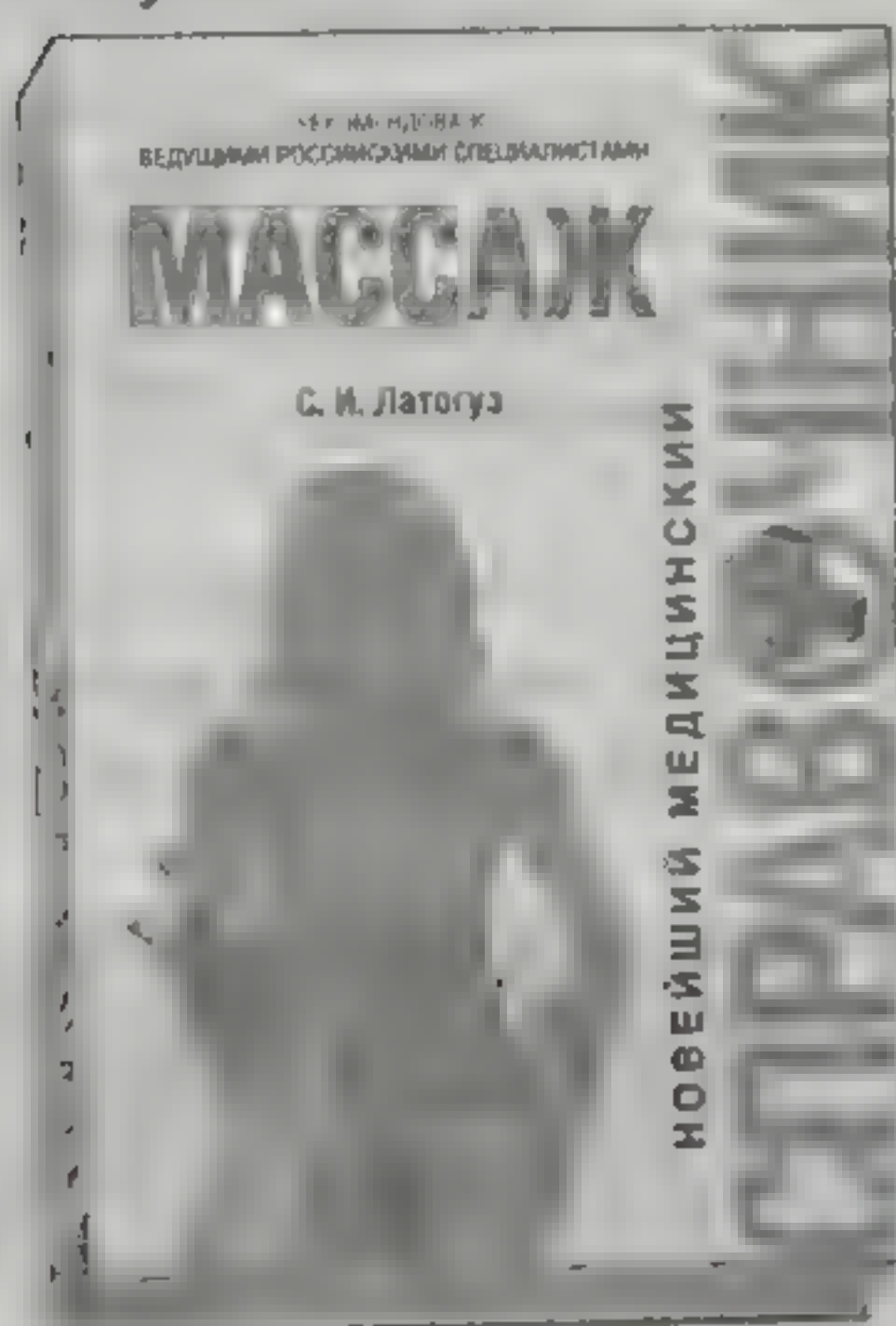
# НОВЕЙШИЙ МЕДИЦИНСКИЙ СПРАВОЧНИК

Серия справочников, предлагающих современную, объективную и полную информацию по различным медицинским темам.



Авторами книг серии являются признанные специалисты, что гарантирует качество предлагаемой информации.

Четкая и максимально удобная структура, конкретное и одновременно краткое изложение материала облегчат работу с книгами серии и использование их в ежедневной практической работе специалистами-медиками, а также сделают эти справочники актуальными и полезными для широкого круга читателей.



- 1) «Справочник практического врача»  
под. ред. Михайлова А. А.  
и Дворецкого Л.И.
- 2) «Массаж»  
Латогуз С.И.
- 3) «Справочник семейного врача»  
под ред. Палеева Н.Р.,  
Сергеева О.И

[www.education.eksmo.ru](http://www.education.eksmo.ru)



510-00



МЕДИЦИНСКОЕ



ОБРАЗОВАНИЕ

Т.В. ПЛЕТЕНЁВА

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ ПРАКТИКУМ

Предлагаемое учебное пособие в сжатом виде представляет основные разделы токсикологической химии:

- ✓ яды и отравления,
- ✓ введение в наркологию,
- ✓ безопасность лекарственных средств,
- ✓ определение пестицидов и др.

Структура каждого раздела максимально облегчает практическое освоение науки о способах определения токсичных веществ и продуктов их метаболизма при анализе биоматериалов и других объектов.

Каждый раздел включает входной тест по теме занятия, руководство к лабораторно-практическому занятию, итоговый тест, ссылку на необходимую литературу.

В конце книги приводятся ответы на тестовые вопросы для контроля усвоения учебного материала. В Приложении даны действующие нормативные документы.

Учебное пособие рекомендовано УМО  
по медицинскому и фармацевтическому образованию  
студентам, обучающимся по специальности «Фармация».

ISBN 978-5-699-26668-5



9 785699 266685 >





# ТОРСКОТОТОНСКИЯ ПРАКТИКУМ





